

DÉBORA CRISTINA SANTIAGO  
MARTIN HOMECHIN

# MÉTODOS DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE NEMATÓIDES EM SEMENTES

2004

DÉBORA CRISTINA SANTIAGO  
MARTIN HOMECHIN

**MÉTODOS DE DETECÇÃO E  
QUANTIFICAÇÃO DE NEMATÓIDES EM  
SEMENTES**

Editora Mecenaz Ltda.  
Londrina - Pr  
2004

**MÉTODOS DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE NEMATÓIDES EM SEMENTES**  
2004

Débora Cristina Santiago  
Martin Homechin

Todos os direitos reservados.

Nenhuma parte deste livro pode ser reproduzida ou transmitida de qualquer forma ou por quaisquer meios eletrônico, mecânico, fotocopiado, gravado ou outro sem autorização prévia por escrito da Editora Mecnas Ltda.

Capa, Projeto gráfico e Editoração eletrônica  
**André Henrique dos Santos** - (43) 3357-2034

Impressão  
**Midiograf**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Bibliotecária Neide Maria Jardimette Zaninelli CRB-9 / 884

---

S235m Santiago, Débora Cristina  
Métodos de detecção de nematóides em sementes /  
Débora Cristina Santiago, Martin Homechin. - Arapongas: Midas, 2003.  
92p. : il. ; 24 cm

ISBN 85-89687-02-3

1. Nematóide. 2. Método de detecção. 3. Semente. I. Homechin,  
Martin. II. Título.

CDU 631.53.02

---

**Impresso no Brasil / Printed in Brazil**



Copyright © 2004  
Direitos desta edição reservados à EDITORA MECENAS LTDA.  
Av. Duque de Caxias, 526 - sala 2  
86015-000 - Londrina - PR – Brasil

## **AGRADECIMENTOS**

---

Os autores agradecem a todos aqueles que, das mais diversas formas, contribuíram para que a presente obra fosse concretizada; ao apoio a todas as atividades de pesquisa das agências de fomento à Ciência e Tecnologia e Formação de Recursos Humanos, particularmente CAPES e CNPq. A nossa grande Instituição de Ensino, Pesquisa e Extensão, Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Agronomia pelo suporte em todas as fases da elaboração e preparação dos textos e execução das práticas. Também à Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes – ABRATES, pelo incentivo e encorajamento para a elaboração e publicação.



## **BIOGRAFIA DOS AUTORES**

---

Débora Cristina Santiago, graduada em Agronomia pela Fundação Faculdade de Agronomia “Luiz Meneghel”, de Bandeirantes, PR, com Mestrado e Doutorado em Agronomia, área de Fitopatologia e concentração em Nematologia pela Universidade Estadual de Agronomia UEL, Londrina, PR. É Professora/Pesquisadora na Universidade Estadual de Londrina (UEL), Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Agronomia e leciona nas disciplinas de Microbiologia Geral - Fitopatologia e Nematologia Agrícola.

Martin Homechin, Engenheiro Agrônomo pela Fundação Faculdade de Agronomia “Luiz Meneghel”, com Mestrado e Doutorado em Fitopatologia pela Escola Superior de Agricultura (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP).

Atuou como Pesquisador no Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR) e no Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Embrapa-Soja). Há cerca de 15 anos é Professor/Pesquisador na Universidade Estadual de Londrina (UEL). É responsável por disciplinas de Fitopatologia nos cursos de Graduação e Pós-Graduação do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias – CCA.

Os autores desenvolvem pesquisas no Controle Integrado de Fitopatógenos, com publicações em periódicos nacionais e internacionais.





## **APRESENTAÇÃO**

---

Os nematóides apesar de ocuparem o segundo lugar em número de espécies, serem os mais numerosos dentre os animais metazoários e existirem onde há vida, ainda, são pouco conhecidos. Não existem animais domésticos ou plantas cultivadas potencialmente livres de alguma forma nociva de nematóide.

Este livro, com clareza e objetividade, representa o esforço e o desenvolvimento por vários estudiosos de metodologias, que envolvem a detecção da presença de gêneros de fitonematóides associados à semente, importante representante para a sobrevivência e disseminação desses agentes. Para sua elaboração foram utilizadas referências locais e publicações internacionais de renomados pesquisadores, em periódicos com impacto nacional e internacional.

Este relato procura enfocar metodologias disponíveis e consolidadas, as quais podem ser empregadas pelos diferentes seguimentos agrícolas como ensino, pesquisa e setor de produção agrícola, uma vez que essa coletânea de métodos pode ser utilizada por técnicos de laboratório e analistas de sementes.

**Professor Dr. Martin Homechin**  
**Fitopatologista – UEL, Londrina, PR.**



## SUMARIO

---

BIOGRAFIA DOS AUTORES .....	7
APRESENTAÇÃO .....	11
INTRODUÇÃO .....	15
<b>NEMATÓIDES ASSOCIADOS ÀS SEMENTES .....</b>	<b>17</b>
A. Famílias de nematóides patógenos de sementes .....	17
B. Famílias de nematóides parasitas de plantas e vetores de viroses em sementes .....	17
C. Famílias de nematóides participantes de relações de sinergismo com fungos e bactérias patogênicos às sementes .....	19
<b>GÊNEROS DE FITONEMATÓIDES TRANSMITIDOS ATRAVÉS DE SEMENTES .....</b>	<b>21</b>
A. Anguina (nematóide de galhas das sementes) .....	21
B. Aphelenchoides (nematóides de folhas e gemas) .....	23
C. Ditylenchus (nematóide de caules e bulbos) .....	25
D. Heterodera (nematóide de cisto) .....	26
E. Rhadinaphelenchus (nematóide do anel vermelho do coqueiro) .....	29
<b>DA AMOSTRAGEM .....</b>	<b>31</b>
A. Tamanho do lote de sementes .....	31
B. Metodologia para obtenção de amostras .....	32
C. Intensidade da amostragem .....	32
D. Identificação, embalagem, selagem e remessa da amostra .....	34

<b>MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE NEMATÓIDES .....</b>	<b>35</b>
<b>A. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE FORMAS LIVRES DE NEMATÓIDES .....</b>	<b>36</b>
1. Método do exame direto de sementes (HOOPER, 1970) .....	36
2. Método do funil de Baermann (BAERMANN, 1917) .....	38
3. Método da bandeja de Whitehead e Hemming (1965), modificado por TENENTE et al. (1994) .....	41
4. Método de Zuckerman et al. (1990) modificado por TENENTE et al. (1994) para sementes de leguminosas .....	42
5. Método da incubação de sementes (YOUNG, 1954) .....	44
6. Método do descascamento manual de sementes (HUANG, 1983) .....	47
7. Método do descascamento manual de sementes + funil de Baermann (FLEGG; HOOPER, 1970) .....	48
8. Método da trituração de sementes infestadas em liquidificador elétrico (HUANG, 1983) .....	51
9. Trituração das sementes em liquidificador elétrico + Funil de Baermann (HUANG; MOTA SILVA, 1982) .....	53
10. Método da trituração e filtração para recuperação de endoparasitas migradores (FALLIS, 1943; STEMERDING, 1964) .....	55
11. Método da trituração e sedimentação para recuperação de <i>Rhadinaphelenchus cocophilus</i> (FENWICK, 1963) .....	58
12. Método do liquidificador aliado à centrifugação em solução de sacarose mais caolim (COLLEN; D'HERDE, 1972) .....	61
13. Método do peneiramento + funil de Baermann (ZUCKERMAN; MAI; HARRISON, 1990) .....	65
<b>B. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE HETERODERA .....</b>	<b>67</b>
1. Método da flutuação + peneiramento (SHEPHERD, 1970) .....	68
2. Extrator de Fenwick (FENWICK, 1951) .....	69
3. Método de centrifugação em solução de sacarose (JENKINS, 1964) .....	70
<b>TÉCNICAS MOLECULARES X NEMATÓIDES X SEMENTES .....</b>	<b>75</b>
<b>TÉCNICA PARA A QUANTIFICAÇÃO DOS NEMATÓIDES .....</b>	<b>77</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>79</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>81</b>

## INTRODUÇÃO

---

A contribuição para o sucesso econômico – financeiro – social da exploração agrícola brasileira depende diretamente de programas de melhoramento genético baseados na utilização de materiais originários do exterior. Porém, o uso destes recursos estrangeiros incrementa a possibilidade dos riscos de introdução de pragas e patologias exóticas no país, os quais podem reduzir ou eliminar completamente os benefícios do germoplasma importado (FOSTER, 1988).

Os riscos da introdução e disseminação de nematóides parasitas de plantas dentro do Brasil evidenciam que precauções para minimizar estes riscos devem ser consideradas. Em serviços de quarentena, todos os germoplasmas de plantas não devem apresentar nenhum percentual de infestação por nematóides parasitas para serem aceitos no Brasil (TENENTE *et al.*, 1994).

A possibilidade de disseminação de fitonematóides através de sementes, a curta e a longa distância, entre regiões, países e continentes em todo o mundo, tem aumentado através do intercâmbio de sementes entre agricultores, melhoristas de plantas e outros agentes. Esse movimento, necessário à moderna agricultura, é favorecido pela constante circulação de material vegetal e falta de conscientização durante os processos de produção, comercialização e produção de sementes (TENENTE; COSTA MANSO, 1987).

Muitas doenças de plantas causadas por nematóides são comuns para a maioria das culturas exploradas economicamente em muitos países. Entretanto, muitas espécies de fitonematóides e raças biológicas não ocorrem no Brasil, como *Anguina tritici* (Steinbuch, 1799) Chitwood, 1935; *Anguina agrostis* (Steinbuch, 1799) Filipjev, 1936, e algumas raças de *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn, 1857) Filipjev, 1936 (TENENTE *et al.*, 1994). No entanto, existe o risco permanente de sua introdução e disseminação com a importação de material genético (BATISTA *et al.*, 1998 a; 1998 b). Portanto, as práticas de inspeção e quarentena destes materiais são muito importantes e objetivam interceptar pragas exóticas e de importância econômica e minimizar os riscos de ocorrência e disseminação desses importantes patógenos na Agricultura Nacional (TENENTE; VIANELLO, PINHEIRO, 2000).

Apesar da grande importância dessa sistemática, o acesso a metodologias para análise e detecção de nematóides em sementes tem sido limitado. Existem inúmeras informações a cerca de métodos para extração de nematóides, mas, com ênfase para amostras de solo. No caso específico de sementes, as informações encontram-se esparsas. Assim, o objetivo do presente livro foi reunir metodologias de forma condensada e de fácil utilização, buscando encorajar estudos de nematóides no seio da patologia de sementes, de modo a facilitar a obtenção de dados para a fiscalização, produção e comercialização, garantindo melhor qualidade e sanidade de sementes e das áreas de produção.