

ANA KARINA DOS SANTOS OLIVEIRA

**INFLUÊNCIA DA PLANTA HOSPEDEIRA E TEMPERATURA NA
MIGRAÇÃO VERTICAL DE *Meloidogyne enterolobii* E *M. incognita*
EM COLUNAS DE SOLO**

**Recife – PE
Fevereiro, 2019**

ANA KARINA DOS SANTOS OLIVEIRA

**INFLUÊNCIA DA PLANTA HOSPEDEIRA E TEMPERATURA NA
MIGRAÇÃO VERTICAL DE *Meloidogyne enterolobii* E *M. incognita*
EM COLUNAS DE SOLO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola na Área de Concentração em Engenharia de Água e Solo, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), como requisito para obtenção do título de Doutora em Engenharia Agrícola.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Prof^ª. Dr^ª. Elvira Maria Régis Pedrosa – Orientadora

Prof. Dr. Ênio Farias de França e Silva – Co-orientador

Dr. Donald Ward Dickson – Co-orientador no exterior

Recife – PE

Fevereiro, 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Centra, Recife-PE, Brasil

O48i Oliveira, Ana Karina dos Santos
Influência da planta hospedeira e temperatura na migração vertical
de *Meloidogyne enterolobii* e *M. incognita* em colunas de solo / Ana
Karina dos Santos Oliveira. – 2019.
82 f. : il.

Orientador: Elvira Maria Régis Pedrosa.

Coorientadores: Ênio Farias de França e Silva ; Donald Ward
Dickson.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Recife,
BR-PE, 2019.

Inclui referências.

1. Plantas - Parasito 2. Pragas agrícolas - Controle 3. Nematóide
4. Plantas hospedeiras 5. Solos - Qualidade 6. Migração I. Pedrosa,
Elvira Maria Régis, orient. II. Silva, Ênio Farias de França e, coorient.
III. Dickson, Donald Ward, coorient. IV. Título

CDD 630

ANA KARINA DOS SANTOS OLIVEIRA

Tese apresentada em 28 de fevereiro de 2019 ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da Universidade Federal Rural de Pernambuco como parte das exigências para obtenção do título de Doutora.

Influência da planta hospedeira e temperatura na migração vertical de *Meloidogyne enterolobii* e *M. incognita* em colunas de solo.

COMISSÃO JULGADORA

ORIENTADORA:

Prof^ª. PhD. Elvira Maria Régis Pedrosa (UFRPE)

EXAMINADORES:

PhD. Donald Ward Dickson (University of Florida, EUA)

Dr^ª. Silvia João Santos Sineiro de Oliveira Vau (DPI/FDACS, EUA)

Prof^ª. Dr^ª. Andrea Chaves Fiuza Porto (UFRPE)

Prof. Dr. Edivan Rodrigues de Souza (UFRPE)

Recife - PE

Fevereiro, 2019

“Não passo pela vida... e você também não deveria passar!
Viva!!! Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar a
vida e viver com paixão, perder com classe e vencer com
ousadia, porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida
é muito para ser insignificante.”

Charlie Chaplin

Aos meus pais, **Ana Lucia Oliveira e Valfredo Filho**, e meu irmão **Rodrigo Oliveira**, pelo amor, ensinamentos, força, cuidado, compreensão e apoio incondicional em todos os momentos da minha vida, contribuindo para minha formação.

DEDICO

Aos meus avós **Antônio Couto, Maria de Lourdes (*in memoriam*), Valfredo e Maria Zenilda**, pelos ensinamentos, amor, carinho, incentivo e confiança em toda minha vida.

Aos meus tios **Fábio Henrique, Carla Tarciana e Francisco Miguel**, pelo amor, amizade e incentivo, sempre apoiando minhas decisões.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente a **Deus** pela minha vida, por estar comigo em todos os momentos e permitir mais uma vitória em minha vida, e por renovar a minha fé todos os dias;

À **Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)**, através do **Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola (PGEA)**, pela oportunidade de cursar o Doutorado;

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela concessão da bolsa de estudos no Brasil, e pela oportunidade e recursos financeiros durante 9 meses de estágio no Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE), Edital nº 19/2016;

A minha orientadora **Prof^a. Dr^a. Elvira Maria Régis Pedrosa** pela real e presente orientação, pela paciência, amizade, conselhos, atenção e compreensão, a minha sincera admiração;

Ao professor **Dr. Donald Dickson** do Departamento de Entomologia e Nematologia da Universidade da Flórida, campus Gainesville, e as **Dr^a. Janete Brito** e **Dr^a. Silvia Vau** pela orientação, conselhos, amizade, bons momentos, apoio e ensinamentos, e aos amigos **Mr. Patrick, Brian Whitenack** e **Eyad Shuker** por toda ajuda, amizade e bons momentos, durante todo desenvolvimento do experimento no exterior, o meu enorme agradecimento;

Ao **Prof. Dr. Ênio Farias de França e Silva** pela co-orientação, incentivos, conselhos e ensinamentos, a minha gratidão;

A minha **Família** pelo incentivo e apoio incondicional em todos os momentos, especialmente a minha mãe Ana Lucia, meu pai Valfredo, meu irmão Rodrigo, meus avós Maria de Lourdes (*in memoriam*), Antônio Couto, Valfredo e Maria Zenilda, meus tios Fábio Henrique e Paula Marília, Carla Tarciana e Fernando Bruce, e Francisco Miguel, e minha prima Zenilda (*in memoriam*), vocês são minha vida, Amo vocês;

Ao meu namorado **Diego Huggins** pelo apoio, amor, carinho, cuidado, ajuda, incentivo, por todos os momentos felizes e difíceis inclusive em Gainesville, Flórida, por toda cumplicidade desde a graduação. Devo muito desse trabalho a você, Te Amo;

A **Thais Fernanda Vicente** e **Lílian Guimarães**, por todos os ensinamentos, conselhos, amizade, apoio, companheirismo, momentos alegres e triste, vocês me ajudaram muito a crescer;

Aos **Amigos/irmãos** que sempre me apoiaram, especialmente Danielle Mendes, Marcos Menezes, Mariana Melo, Andrea Oliveira, William Pereira, Elieudes Alves, Danielle Huggins, Tatiane Lafayette, Carolyne Andrade, Aisy Porfírio, Maria Elisa Damascena, Tamíz Freitas, Marcella Nínive, Juliana Lins, Camila Mariz, Larissa White e Samara Oliveira por todo carinho, amor e companheirismo;

A **todos do Laboratório de Fitonematologia (LAFNEMA)**, especialmente a Anna Hozana Francilino, Sandra Maranhão, Carmem Abade, Marilene Lunardi, Mariana David, Gabriela Cavalcante, Carolina Lima, Alessandro Silva, Dayane Lima, Bruno Eduardo, Juliana Melo pelo apoio, companheirismo, momentos de descontração e ajuda nessa pesquisa;

A todos os **amigos da UFRPE e Pós-graduação em Engenharia Agrícola**, em especial a Aline Lucena, Allysson Lyra, Aline Omar, Célia Silva, Wanderson Oliveira, Angela Jessyka Fontenele, Keila Jerônimo, Jucicléia Soares pelo incentivo, apoio, amizade, companheirismo e colaboração durante o período de estudos;

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma são responsáveis pela concretização desse momento. **MUITO OBRIGADA!**

RESUMO GERAL

Oliveira, A. K. S., 2019. Influência da planta hospedeira e temperatura na migração vertical de *Meloidogyne enterolobii* e *M. incognita* em colunas de solo. Tese de doutorado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

Nematoides das galhas, *Meloidogyne* spp., são notáveis pragas agrícolas que causam redução significativa na produção em todo mundo. *Meloidogyne incognita* é uma espécie cosmopolita muito importante, associada a quase todas as culturas, ao passo que *M. enterolobii* é uma espécie emergente altamente agressiva que precisa de atenção urgente. O parasitismo desses nematoides é precedido pela migração no solo dos juvenis de segundo-estádio (J2s) em direção às raízes de plantas hospedeiras. Portanto, a habilidade de localizar hospedeiros está relacionada às condições do solo e exsudação das plantas. A presente pesquisa objetivou avaliar a migração vertical de J2s de *M. enterolobii* e *M. incognita* em colunas de solo de PVC com diferentes estímulos vegetais e temperaturas. As colunas foram montadas acoplando três anéis idênticos, com 4,4 cm de diâmetro por 4 cm de comprimento, e um anel de 2 cm de comprimento, anel de inoculação; preenchidos com solo arenoso mantido com densidade do solo de $1,2 \text{ g.cm}^{-3}$ e 10% de umidade. Os estímulos vegetais testados foram tomateiro e *Tagetes patula* a 20 e 26 °C, mantendo-se colunas sem planta como controle. As avaliações ocorreram aos 3, 6, 9 e 12 dias após a infestação do solo (DAI), os juvenis foram extraídos de cada anel e copo separadamente e as raízes coloridas para avaliação da penetração. Os dados foram analisados por medida repetida manova e qui-quadrado para avaliação da distribuição dos nematoides ao longo das colunas. Aos 3 DAI *M. enterolobii* foi capaz de migrar longas distâncias (>13 cm) independente do estímulo. A distribuição dos J2s nas colunas foi mais uniforme a 20 °C, mas a migração foi maior aos 26 °C, com mais de 60% dos juvenis ativos recuperados dos copos aos 12 DAI. Os J2s penetraram em ambas as plantas, entretanto a migração foi retardada em *T. patula*. Os resultados apresentam novas informações sobre a migração de *Meloidogyne* spp. no solo e pode ajudar pesquisas futuras para o manejo de nematoides.

Palavras-chave: *Meloidogyne enterolobii*, *Meloidogyne incognita*, mobilidade, nematoides das galhas, *Tagetes patula*.

GENERAL ABSTRACT

Oliveira, A. K. S., 2019. Influence of host plant and temperature on the vertical migration of *Meloidogyne enterolobii* and *M. incognita* in soil columns. Doctoral Thesis, Federal Rural University of Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

Root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., are major agricultural pests that cause significant yield reduction worldwide. *Meloidogyne incognita* is a very important cosmopolitan species associated to nearly all crops, while *M. enterolobii* is a highly aggressive emerging species that needs urgent attention. Root-knot nematodes parasitism is preceded by the migration of infective second-stage juveniles (J2s) towards host roots. Thus, the nematode host-finding ability is related to soil conditions and host plant exudation. This research aimed to evaluate the vertical migration of *M. enterolobii* and *M. incognita* J2s in PVC soil columns under different plant stimuli and temperature. Soil columns were assembled by taping together three 4.4-cm-d x 4-cm-long rings on top of a single 2-cm long PVC inoculation ring and then filled with sandy soil and kept at 1.2 g.cm⁻³ bulk density and 10% water content. Tomato, *Tagetes patula*, and host-free (control) were used as plant stimuli, at 20 e 26 °C. Evaluations were carried out at 3, 6, 9 and 12 days after soil infestation. (DAI), and juveniles were extracted from each ring and cups separately, while root systems were stained to observe nematode penetration. Data were subjected to a repeated measures MANOVA and chi-square analysis to compare J2 distribution along the columns. As soon as 3 DAI, *M. enterolobii* migrated distances over 13 cm regardless of plant stimuli. J2s distribution along the columns was more uniform at 20 °C, while the vertical migration was greater at 26 °C, with over 60% of active J2s recovered from the cups at 12 DAI. Juveniles penetrated tomato and *T.patula*, but it was always lower under *T. patula*. The results present new information concerning *Meloidogyne* migration within the soil and may help future research for nematode management.

Key words: *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne enterolobii*, mobility, root-knot nematodes, *Tagetes patula*.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	12
Hipóteses	13
Objetivo geral	13
Objetivos específicos.....	13
CAPÍTULO I – Revisão de Literatura.....	14
1. Nematoides do solo	15
1.1. <i>Meloidogyne</i> spp.	16
1.1.1. Taxonomia e Morfologia dos Nematoides do Gênero <i>Meloidogyne</i>	17
1.1.2. Ciclo de vida	18
1.1.3 Distribuição geográfica e importância econômica.....	19
2. Movimentação de nematoides no solo	21
2.1. Influência de Atributos edáficos	22
2.2. Influência do Estímulo vegetal	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
CAPÍTULO II - Vertical migration of second-stage juveniles of <i>Meloidogyne enterolobii</i> as influenced by temperature and host stimuli.....	45
ABSTRACT	46
INTRODUCTION.....	47
MATERIAL AND METHODS	48
RESULTS AND DISCUSSION	51
CONCLUSIONS	57
LITERATURE CITED.....	58
CAPÍTULO III - Comparison of migration and penetration of <i>Meloidogyne enterolobii</i> and <i>M. incognita</i> in soil columns with tomato and marigold	64
ABSTRACT	65
INTRODUCTION.....	66
MATERIALS AND METHODS	67
RESULTS AND DISCUSSION	69
CONCLUSIONS	74
LITERATURE CITED.....	75
CAPÍTULO IV – Conclusões Gerais.....	81

INTRODUÇÃO GERAL

Diante da atual e progressiva preocupação da população em manter hábitos saudáveis, a busca por alimentos orgânicos aumenta cada vez mais, adicionalmente a preocupação por altas produtividades e sustentabilidade. Dessa forma, a importância em utilizar práticas agrícolas eficientes e adequadas a cada tipo de cultura tem sido priorizada na busca por alimentos de qualidade e redução do uso de agrotóxicos, agregando mais valor à cultura, contribuindo para a preservação do solo e do meio ambiente.

No Brasil, a produção agrícola segue entre altos e baixos. Vários fatores podem ocasionar perdas, dentre os quais, a infecção por nematoides parasitos de plantas, que podem devastar uma produção inteira se encontrados em alto nível de infestação e sem o controle adequado.

Por serem organismos essencialmente aquáticos, os nematoides migram através de filmes de água aderidos às partículas primárias do solo. Esses invertebrados se movimentam devido a ondulações dorsoventrais, ocasionadas devido a eventos de contração/relaxamento da musculatura somática, criando ondas com padrões sinusoidais. Em busca de raízes de uma planta hospedeira, o juvenil de segundo estágio ou J2s (forma infectiva) migra no solo, com o apoio de reservas lipídicas acumuladas no intestino e de órgãos quimiorreceptores que permitem percepção de um gradiente de exsudatos radiculares.

Dentre os fatores que exercem influência na migração dos nematoides no solo, destaca-se a temperatura, afetando diretamente as taxas de metabolismo dos nematoides, induzindo estratégias de sobrevivência em diversas espécies. Cada estágio do ciclo de vida possui uma faixa ótima de temperatura. Altas temperaturas podem acelerar o metabolismo e assim aumentar as taxas de migração.

Entre os fatores bióticos, a planta hospedeira é o mais importante por influenciar diretamente vários aspectos bioecológicos dos nematoides ao mesmo tempo, como duração do ciclo, dinâmica populacional e distribuição no solo. As diferentes espécies de nematoides parasitos de planta podem responder distintamente à liberação de exsudatos, sendo atraídos, repelidos ou neutros. Existem três classificações de exsudatos radiculares atrativos em relação à migração dos nematoides, as quais levam em consideração a distâncias entre os juvenis e as raízes das plantas: atrativos locais, em que os nematoides migram diretamente para locais favoráveis nas raízes; atrativos a curtas distâncias, que aproximam os nematoides das raízes; e atrativos a longas distâncias, que guiam os nematoides de maneira mais ampla para regiões com hospedeiros.

Uma das dificuldades encontradas para o manejo mais eficiente dos nematoides parasitos de plantas é a necessidade de informações mais detalhadas sobre o seu comportamento no solo, uma vez que os aspectos de movimentação desses parasitas em diferentes condições ainda não estão completamente elucidados. Estudos que esclareçam como esses parasitos migram no solo e são atraídos até as raízes contribuirão para aumentar a eficiência das técnicas de controle aplicadas.

Hipóteses:

- 1) A movimentação e dispersão de *Meloidogyne* spp. em colunas de solo ocorre de forma diferente em 20 °C e 26 °C;
- 2) A presença de raízes de plantas hospedeiras afetam positivamente a migração de *Meloidogyne* spp., como resultado da atração desses microrganismos por exsudatos radiculares, ao contrário das não hospedeiras ou antagônicas, a exemplo de *Tagetes patula*, que retardam a migração;
- 3) A migração de *Meloidogyne enterolobii* ocorre de maneira diferente comparada a *M. incognita*.

Objetivo geral:

Estudar a influência da Temperatura e Estímulo vegetal na migração vertical de *Meloidogyne* spp. em colunas de solo, ao longo do tempo, em condições controladas.

Objetivos específicos:

Determinar a taxa de migração vertical de J2s de *M. enterolobii* e *M. incognita* em colunas de solo em condições controladas ao longo do tempo;

Comparar a migração e distribuição de J2s de *M. enterolobii* em colunas de solo a 20 °C e 26 °C;

Avaliar a influência da presença de tomateiro e *Tagetes patula* na taxa de movimentação vertical de J2s de *M. enterolobii* e *M. incognita*.

Revisão de Literatura

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

1. Nematoides do solo

Os nematoides pertencem ao Filo Nematoda, sendo encontrados em praticamente todos os nichos ecológicos, com estimativa de mais de 1 milhão de espécies, embora apenas cerca de 27 mil sejam descritas (BLAXTER, 2003; LAMBSHEAD, 2004; COGHLAN, 2005; CARDOSO et al., 2012; AHMED et al., 2015). Os nematoides que habitam o solo são animais relativamente pequenos (300 μm a 4 mm), abundantes (6×10^4 a 10^8 por m^2), com diversidade ecológica, morfológica, e curto ciclo de vida (dias a poucas semanas), permitindo respostas rápidas a mudanças no fornecimento de alimento (WASILEWSKA, 1979; BONGERS, 1990; LAMBSHEAD, 2004; BLAXTER, 2011; VERVOOT et al., 2012).

De acordo com o hábito alimentar podem ser classificados em cinco grupos funcionais: parasitos de planta, bacteriófagos, micófagos, onívoros e predadores (CARES; BLUM; EDNALVA, 2006; LEVI et al., 2012; MIR; TANVEER, 2016; YEATES et al., 1993). Segundo Beare et al. (1992), os nematoides parasitos de planta são considerados consumidores primários, enquanto os bacteriófagos e micófagos são consumidores secundários, e onívoros e predadores são consumidores terciários. Apesar de representarem uma pequena porção da biomassa terrestre, a abundância e presença desses microrganismos em diferentes níveis da cadeia alimentar do solo os tornam muito importantes em processos ambientais e ecossistemas terrestres (BARKER; KOENNING, 1998).

Os nematoides parasitos de plantas formam o grupo de maior importância econômica, visto que podem dizimar plantações inteiras, causando grandes prejuízos para os produtores, e destacam-se entre as espécies descritas representando mais de 50 gêneros (COSTA; LILLEY; URWIN, 2007). Dentre os fitoparasitos, os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) são considerados os de maior importância agrícola, pois possuem várias espécies hospedeiras e grande distribuição mundial (CARNEIRO; ALMEIDA; QUÉNHERVÉ, 2000; FREITAS; OLIVEIRA; FERRAZ, 2004). Segundo Nicol et al. (2011) e Elling (2013), perdas culturais anuais causadas por nematoides parasitos de plantas equivalem a aproximadamente 8,8 a 14,6% do total produzido, equivalendo a US\$ 173 bilhões no mundo.

1.1. *Meloidogyne* spp.

As espécies do gênero *Meloidogyne* apresentam distribuição geográfica ampla e uma grande variedade de plantas hospedeiras, causando enormes danos às culturas (FERRAZ; BROWN, 2016; FREITAS; OLIVEIRA; FERRAZ, 2001). As espécies desse gênero possuem melhor adaptação em regiões com temperatura de solo acima de 28 °C. Comportamentos gerais distintos são observados entre espécies, por exemplo: i) *M. arenaria* é bastante comum em áreas com solos arenosos; ii) *M. hapla* é mais localizado em regiões de clima ameno e tolera temperatura de solo abaixo de 12 °C; iii) *M. incognita* e *M. javanica* são as consideradas mais cosmopolitas, sendo bem adaptadas às diversas condições climáticas brasileiras (FERRAZ; BROWN, 2016; SILVA, 2015).

Meloidogyne enterolobii (sin: *M. mayaguensis* Rammah & Hirschmann) é uma espécie de nematoide-das-galhas bem caracterizada pela sua ampla gama de hospedeiros, incluindo importantes culturas, parasitando plantas herbáceas, lenhosas e ervas daninhas (BRITO et al., 2007; EPPO, 2014). Esses fitonematoides afetam o crescimento e tempo de vida das plantas infestadas, assim como a tolerância a estresses ambientais, causando redução na qualidade e quantidade da produtividade no campo. *M. enterolobii* são considerados bastante agressivos pela capacidade de quebrar a resistência de muitos cultivares, e uma ameaça devido a virulência contra genes de resistência a *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* (EPPO, 2008, 2014).

Em 2001 foi feito o primeiro relato de *M. enterolobii* no Brasil, causando danos expressivos em pomares de goiabeiras (*Psidium guajava*) em Petrolina/PE, e Curaçá e Manicoba/BA (CARNEIRO et al., 2001). Posteriormente, encontrado em diversos outros estados brasileiros, se tornando o principal problema fitossanitário na cultura da goiaba (PEREIRA et al., 2009; GOMES et al., 2010), logo considerada uma espécie emergente no Brasil. Essa espécie foi observada parasitando plantas resistentes às meloidoginoses em São Paulo, como por exemplo o porta-enxerto de pimentão Silver e os tomateiros híbridos Andréa e Débora (CARNEIRO et al., 2006). Outras culturas susceptíveis a *M. enterolobii* são plantas ornamentais, fumo, soja, cafeeiro, mamão, acerola, araquá e diversas hortaliças (GUIMARÃES et al., 2003; LIMA et al., 2003). Internacionalmente, o primeiro relato de *M. enterolobii* nos Estados Unidos ocorreu na Florida em 2004, parasitando plantas ornamentais (BRITO et al., 2004).

M. enterolobii são considerados bem adaptados a regiões de clima quente, completando seu ciclo de vida em torno de 28 dias em temperaturas entre 25 e 30 °C. Altas populações são observadas em solos úmidos e bem drenados. (Silva et al., 2014).

Rodríguez, Gómez e Peteira (2007) ressaltam a importância de *M. enterolobii*, considerando essa espécie uma das mais perigosas dentro do gênero. A detecção, identificação e prevenção de sua disseminação são medidas importantes para impedir a disseminação desse patógeno para áreas não infestadas e para o seu manejo em áreas de ocorrência (ROSA; WESTERICH; WILCKEN, 2014).

1.1.1. Taxonomia e Morfologia dos Nematoides do Gênero *Meloidogyne*

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* são endoparasitos, penetrando completamente o interior do tecido da planta hospedeira, e são conhecidos como nematoides das galhas devido ao engrossamento das raízes da planta hospedeira após o parasitismo (MARIN et al., 2017). A sistemática desse gênero pode ser descrita como: Filo Nematoda, Classe Chromadorea, Subclasse Secernentia, Ordem Tylenchida e Família Meloidogynidae. Várias espécies já foram descritas, das quais se destacam *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. enterolobii* (FERRAZ; BROWN, 2016).

Espécies do gênero *Meloidogyne* apresentam dimorfismo sexual muito evidente na fase adulta, sendo as fêmeas obesas, com forma de saco, e os machos filiformes; as diferenças no formato corporal ocorrem durante o desenvolvimento pós-embrionário (FERRAZ; BROWN, 2016). Além disso, a identificação a nível de espécie torna-se difícil pela variação morfológica inter e intraespecífica de *Meloidogyne* spp. (CARNEIRO; ALMEIDA; QUÉNÉHERVÉ, 2000).

Quanto às características morfológicas das fêmeas adultas sedentárias, as mesmas apresentam coloração esbranquiçada, corpo piriforme e comprimento médio entre 0,44-1,30 mm e largura de 0,325-0,700 mm (EISENBACK, 1985b). Em diversas espécies, o corpo é simétrico com pescoço e região perineal (vulva-ânus) em linha reta, porém, em outras o pescoço pode curvar-se formando um ângulo que pode variar de 15-90° com relação ao eixo do corpo (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991). O estomatoestilete compõe-se de um cone, podendo ser um pouco curvado dorsalmente em várias espécies, com haste reta e três bulbos basais de altura, largura e disposições variáveis (HUNT; HANDBOO, 2009). Com relação às galhas nas raízes, seu tamanho, forma e posição podem variar expressivamente, podendo ser alongadas ou esféricas. Eventualmente, são descritas como pequenas, pouco evidentes ou tipicamente apicais, necessitando de lupa para uma visualização mais clara (FERRAZ; BROWN, 2016).

Quanto aos machos desse gênero, são considerados vermiformes, não sedentários, e apresentam grande variedade no seu comprimento medindo de 700 a 2000 µm, devido

à variação nas condições ambientais ocorrentes durante seu ciclo de vida (EISENBACK, 1985a). O estilete apresenta comprimento variando de 13 a 30 μm .

Os juvenis de segundo estágio (J2), que é a fase infectiva desse gênero (ABAD et al., 2009), são caracterizados como vermiformes, anelados, com tamanho variando de 250-600 μm (KARSSSEN; MOENS, 2006), e seu estilete é delicado com comprimento em média de 8 a 18 μm (EISENBACK, 1985c).

1.1.2. Ciclo de vida

O ciclo biológico do *Meloidogyne* completa-se em média em quatro semanas (FERRAZ; BROWN, 2016; SILVA, 2015), sofrendo influência de vários fatores como temperatura, umidade e planta hospedeira. A faixa ótima de temperatura para espécies de *M. arenaria*, *M. incognita* e *M. javanica* é de 25 a 30 °C. Cada fêmea tem a capacidade de produzir aproximadamente 400 ovos, o que leva a um aumento da população em curtos períodos de tempo (FERRAZ; MONTEIRO, 2011). Esses ovos são produzidos em uma matriz gelatinosa chamada massa de ovos, em grande maioria, externa à raiz, ocorrendo também na parte interna no parênquima cortical (ABAD et al., 2009; MONTEIRO, 2016).

Completado o desenvolvimento embrionário, ainda no interior do ovo, o juvenil de primeiro estágio (J1) sofre a primeira ecdise e emerge, com força mecânica exercida por seu estilete, como juvenil de segundo estágio (J2) (MOENS; PERRY; STARR, 2009), dando início à fase ativa do ciclo de vida (DAS; WESEMAEL; PERRY, 2011). Durante esse estágio, os nematoides movem-se no solo a procura de raízes de cultura hospedeira favorável, em que essa busca, que pode durar dias, semanas ou até meses, é suportada por reservas de energia acumuladas anteriormente no intestino (lipídios). Seguido da penetração nas raízes, os J2 movimentam-se intercelularmente pelo córtex até encontrarem local propício ao estabelecimento do sítio de alimentação nas camadas mais profundas (MONTEIRO, 2016; WARMERDAN et al., 2018).

A penetração do J2 infectante na região apical da raiz dá início ao parasitismo, e após estabelecer o local apropriado que servirá de sítio de alimentação, o juvenil inicia sua nutrição sobre grupo de cinco a seis células. Essas células parasitadas logo irão sofrer alterações morfológicas e fisiológicas, devido a injeção de secreções das glândulas esofagianas dos nematoides (FERRAZ; BROWN, 2016). Essas células são chamadas células nutridoras (gigantes), que irão fornecer indispensável sustento ao juvenil, e passarão a formar um tecido diferenciado, o cenócito, que irá produzir o alimento

fundamental ao desenvolvimento completo do nematoide, o qual sem a formação desse tecido o J2 não completará seu ciclo nem reproduzirá (FERRAZ; BROWN, 2016).

Juntamente à composição das células nutridoras, a injeção de secreções das células forma tecidos em volta do corpo dos nematoides que podem evidenciar reações de hiperplasia e hipertrofia, resultando no surgimento de engrossamentos nas raízes, de posição e tamanho variados, conhecido como galhas (MOENS; PERRY; STARR, 2009; MOREIRA et al., 2018). Através da ingestão do alimento, o J2 perde a mobilidade, tornando-se sedentário (ELLING, 2013), e adquire forma salsichoide, denominando-se então J2 parasita. A partir daí o nematoide sofre três ecdises consequentes atingindo a fase adulta, avançando aos estádios de J3, J4 e de fêmea (imatura) ou de macho (ABAD et al., 2009; FERRAZ; BROWN, 2016)

O alvo preferencial para o parasitismo da maioria dos fitonematoides é o sistema radicular das plantas, porém outros órgãos subterrâneos podem ser atingidos, como rizomas (banana, gengibre), túberas e tubérculos (inhame, batata), ou frutos hipógeos (amendoim) (FERRAZ; BROWN, 2016).

Em situações adversas, como resistência da planta hospedeira, temperatura extrema e densidade populacional de nematoides alta, pode ocorrer a reversão sexual (CHITWOOD; PERRY, 2009). Nesse fenômeno, os juvenis que originaram fêmeas tornam-se machos (seu primórdio sexual se desenvolve em testículos em vez de ovários), obtendo assim menor produção de ovos e um parasitismo moderado às plantas infectadas, prevenindo a sobrevivência das poucas fêmeas formadas (FREITAS; OLIVEIRA; FERRAZ, 2006; MONTEIRO, 2016).

1.1.3 Distribuição geográfica e importância econômica

As espécies de *Meloidogyne* representam o grupo de maior relevância econômica, em consequência do seu alto grau de polifagia e vasta distribuição geográfica, ameaçando constantemente produtores rurais das zonas temperadas, tropical e subtropical (JONES et al., 2013; BRUINSMA; ANTONIOLLI, 2015; FERRAZ; BROWN, 2016).

No Brasil, em 1887, Emilio Goeldi criou o gênero *Meloidogyne*, quando incluiu a descrição da espécie-tipo, *M. exigua*, em um longo relatório técnico-científico sobre problemas sanitários no cultivo de café na antiga Província do Rio de Janeiro (MOENS; PERRY; STARR, 2009). Alguns pesquisadores já haviam relatado o aparecimento de galhas nas raízes, mas sem uma descrição específica, havendo assim muita controvérsia nos anos seguintes relacionada à posição sistemática dos nematoides de galhas em

diversos gêneros diferentes. Apenas em 1949, essa confusão que se iniciou entre nematoides de galhas e de cistos foi explicada por B. Chitwood, estabelecendo de forma clara que os de galhas estavam associados ao gênero *Meloidogyne*, demonstrando critérios básicos para identificar morfológicamente suas espécies. No momento atual, esse gênero apresenta mais de 100 espécies já descritas, parasitando mais de 2.000 culturas (MOREIRA et al., 2018), sendo esse número cada vez mais crescente, onde as espécies *M. incognita* e *M. javanica* são as economicamente mais importantes em todo o mundo (FERRAZ; BROWN, 2016). Recentemente, devido às grandes perdas culturais localizadas, algumas espécies emergentes estão recebendo mais atenção, como por exemplo, *M. enterolobii* em goiabeiras no Brasil (CARNEIRO et al., 2011) e *M. minor* em relva na Europa (MORRIS et al., 2011).

A meloidoginose (nome da doença causada por espécies do gênero *Meloidogyne*) provoca perdas culturais em tomateiros cultivados em ambiente protegido da ordem de 14 a 44% (CHARCHAR; ARAGÃO, 2005). Anwar e McKenry (2012) citam perdas de 12% em países desenvolvidos e quase 15% em países em desenvolvimento como no Paquistão, onde são considerados o principal entrave na produção de olerícolas (ANWAR; MCKENRY, 2012). Segundo Sikora e Fernandez (2005), os prejuízos observados em olerícolas, nas regiões tropicais, podem variar entre 17 e 20% para a cultura da berinjela e entre 24 e 38% para o tomate, com perdas totais da safra em produção comercial intensiva, quando não realizado o controle dos nematoides-das-galhas; em cenoura as perdas, no geral, são totais (FERRAZ; BROWN, 2016).

No Brasil, Rosa, Westerich e Wilcken (2013) encontraram que o tomateiro é uma das olerícolas mais atacadas pelos nematoides das galhas, em São Paulo. Adicionalmente, a presença de nematoides de galhas, como *M. javanica*, ocasionou reduções na produtividade de cana-de-açúcar da ordem de 35 t ha⁻¹.

O principal sintoma da meloidoginose é a formação das galhas (ANDRADE JÚNIOR et al., 2016), a qual é resultante da hipertrofia e hiperplasia das células da raiz em torno da fêmea, levando a um engrossamento nas raízes (PODESTÁ, 2015), causando deformação em órgãos subterrâneos comestíveis, com consequente queda em valor comercial (FERREIRA; FERRAZ; FREITAS, 2012; FREITAS; OLIVEIRA; FERRAZ, 2012). A parte aérea das plantas reflete os danos causados ao sistema radicular através de redução no crescimento, murchas durante o dia, formação de reboleiras, definhamento em plantas perenes, e eventual morte (FERREIRA; FERRAZ; FREITAS, 2012; FREITAS; OLIVEIRA; FERRAZ, 2012; SILVA, 2015; TIHOHOD, 1993).

Contudo, o impacto econômico associado exclusivamente ao ataque de *Meloidogyne* spp. é escasso na literatura (WESEMAEL; VIAENE; MOENS, 2011), visto que os sintomas citados são facilmente confundidos com deficiência nutricional (FERREIRA; FERRAZ; FREITAS, 2012; FREITAS; OLIVEIRA; FERRAZ, 2012) ou efeito de condições ambientais adversas, como por exemplo a seca.

Além disso, o ponto de penetração dos nematoides nas raízes são canais para entrada de insetos, fungos, vírus e bactérias, prejudicando ainda mais o desenvolvimento vegetal (MARINO et al., 2012). Não obstante, a formação de galhas não é exclusiva de nematoides, podendo ser provocadas também por insetos (coccídeos galhadores) e bactérias (*Agrobacterium*), porém com mecanismos diferentes dos observados em *Meloidogyne* (FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

Os danos causados por esses fitonematoides dependem de diversos fatores, tais como densidade populacional em relação à massa de raízes (fator intrínseco aos nematoides), vigor da planta em tolerar altas populações e grau de resistência e susceptibilidade (fatores da planta hospedeira) e gradientes de atributos edáficos físicos e químicos (fatores ambientais) (EMBRAPA, 2014). Os fatores ambientais e vegetativos são de suma importância, pois influenciam direta e indiretamente a movimentação e migração do estágio infectivo do fitonematoide no solo.

2. Movimentação de nematoides no solo

O movimento típico realizado pelos nematoides enquanto migram no solo é chamado de propulsão ondulatória, sendo realizada através de contrações musculares unilaterais (FERRAZ; BROWN, 2016; ROBINSON, PERRY, 2006). Como resultado, esses parasitas seguem caminhos sinusoidais quando se movem em superfícies planas (ROBINSON, PERRY, 2006). Wallace (1968), Niebur e Erdös (1991) e Cohen e Boyle (2012) descrevem com mais detalhes a dinâmica da propulsão ondulatória. Além disso, os fatores fisiológicos mais importantes dos nematoides que influenciam a taxa de movimentação dos nematoides são: temperatura, disponibilidade de oxigênio, toxinas, status hídrico e iônico e reserva energética (ROBINSON, PERRY, 2006).

Contudo, existem algumas exceções (GRAY, 1939), como nematoides anelados (subclasse Secernentia, família Criconematidae), grupo de fitonematoides cosmopolitas com estrias cuticulares transversais marcantes, que realizam um movimento denominado “estica e puxa”, semelhante à locomoção das minhocas (FERRAZ; BROWN, 2016).

Deve-se considerar, portanto, que a dispersão e disseminação de fitonematoides no solo seriam bastante limitadas se fossem realizadas exclusivamente através de movimentos próprios dos nematoides, sendo da ordem de centímetros durante uma safra (FERRAZ; BROWN, 2016). Os nematoides contam com outras vias de dispersão, sendo essas consideradas passivas, as quais estão relacionadas ao transporte por processos naturais e antropogênicos (EIJSSACKERS, 2011). A dispersão passiva pelo vento e pela água foi amplamente estudada por outros autores (ANDRADE; ASMUS, 1997; de ROOIJ-van der GOES et al, 1997; WHARTON, 2004; NKEM et al., 2006; de la PEÑA et al., 2011; BOAG, 1985, FUJIMOTO et al., 2009, 2010; FERRAZ; BROWN, 2016) e pode ser observada em escalas de pequena magnitude, por exemplo em um talhão (BOAG, 1985), e de grande magnitude, numa bacia hidrográfica (FRECKMAN; BALDWIN, 1990; HUGO; MALAN, 2010). Baxter et al. (2013) revisaram os processos erosivos e dispersão hídrica de nematoides e apontaram que futuros estudos necessitam ser realizados para se compreender os impactos biológicos da erosão.

A intervenção humana é considerada a mais importante via de dispersão passiva dos nematoides, tanto a curtas como a longas distâncias. O uso de maquinário e implementos agrícolas visando ao preparo do solo, quando o campo está úmido, contribui expressivamente para a disseminação dos nematoides para áreas ainda não afetadas (FERRAZ; BROWN, 2016).

Por sua vez, a disseminação de fitonematoides a longas distâncias é associada ao comércio internacional de material de propagação vegetal. Desde o século XVIII, com maior intensificação no século XX, o comércio de material vegetal foi feito de forma indiscriminada entre os continentes, sem satisfazer os protocolos de controle de pragas (FERRAZ; BROWN, 2016).

2.1. Influência de Atributos edáficos

O ambiente edáfico exerce significativa influência na capacidade de sobrevivência dos nematoides (CARRILLO; HALLEM; 2015; GALLARDO et al., 2015; HUNT et al., 2001; MBEGA; NZOGELA; 2012; MOORE et al., 2010; WINTER et al., 2006; ZAKI; KHAN; ABID, 2012), incluindo as formas infectivas de nematoides parasitos de planta e entomopatogênicos. A distância que o J2 de *Meloidogyne* percorre em direção à raiz e os fatores que afetam sua migração e penetração têm sido relatados por vários autores (BIRD, 1959; HERMAN et al., 1991; LAVALLEE; ROHDE, 1962; PROT, 1978, 1980; PROT; van GUNDY, 1981a-b; van GUNDY; BIRD; WALLACE, 1967;

VIRGLIERCHIO, 1961; WALLACE, 1958a; WALLACE, 1971). A umidade, potencial osmótico, textura, aeração e temperatura (van GUNDY, 1985), são exemplos desses fatores.

As partículas do solo formam agregados, os quais influenciam a movimentação dos nematoides no solo, visto que o espaço poroso entre esses agregados pode facilitar ou dificultar a migração desses microrganismos. Contudo, o solo pode ser efetivamente sólido para o nematoide se os poros forem muito pequenos ou muito secos não permitindo sua locomoção (ROBINSON; PERRY, 2006). Os nematoides podem ocupar os interstícios completamente cheios de água (sedimentos marinhos e alguns tecidos animais) ou ocupar poros ou canais apenas parcialmente cheios de água (solo úmido, tecidos foliares esponjosos, galhas foliares) (BURR; ROBINSON, 2004). Os J2 movem-se entre os espaços das partículas de solo, onde estão as fases líquidas e gasosas, porém, quanto maior a fase líquida, menor é o nível de oxigênio. Portanto, sua boa atividade ocorre em solo com níveis de umidade entre 40 e 60% da capacidade de campo (van GUNDY, 1985).

Os nematoides, quando no solo, estão sujeitos a diferentes forças exercidas pela gravidade, tensão superficial do filme d'água e atração por partículas de argila. Os efeitos dessas forças são numericamente expressos pelo potencial total da água no solo (potenciais mátrico, osmótico e gravitacional). A gravidade e o potencial osmótico possuem menor expressividade quanto à espessura dos filmes d'água no solo. O potencial mátrico por sua vez, influencia diretamente a tensão superficial da água; sendo assim, quanto maior o potencial mátrico, em termo absoluto, mais fino será o filme d'água (BURR; ROBINSON, 2004). De fato, o potencial mátrico é considerado o melhor indicador quanto à adequabilidade da umidade do solo para movimentação dos nematoides (WALLACE, 1968).

Com relação à textura do solo, solos arenosos possuem poros maiores, facilitando a movimentação dos nematoides no perfil do solo e favorecendo o processo infectivo (SLEETH; REYNOLDS, 1955; WALLACE, 1958; 1969). Os nematoides fitoparasitas possuem ampla habilidade para infectar raízes de plantas em solos constituídos por até 88% de areia (BRODIE; QUATTLEBAUM, 1970). Contrariamente, os solos argilosos possuem poros menores, muitas vezes com diâmetro inferior ao diâmetro do corpo do nematoide, o que dificulta ou impede a mobilidade dos fitonematoides, principalmente, em regiões de clima frio e de baixa umidade no solo (WALLACE, 1958, 1969).

A reprodução dos fitonematoides não depende somente da planta hospedeira, mas também da capacidade de sobrevivência e locomoção no solo, que por sua vez é

influenciada pelo tamanho dos poros entre as partículas e a espessura do filme de água existente entre os agregados (FERRIS; FERRIS, 1998). Neher et al. (1999) observaram melhores condições para a movimentação de nematoides nos espaços entre agregados. Van Gundy (1985) verificou reduções na migração de J2 com o aumento de argila e silte; em solos com teores maiores que 30% de argila não houve migração dos nematoides.

Prot e Van Gundy (1981a) verificaram maior capacidade de migração de J2 de *M. incognita* em solos arenosos, onde 31,5% desses juvenis foram capazes de percorrer uma distância de 20 cm em direção a raízes de tomateiro. Contudo, os J2 de *M. incognita* não foram capazes de se mover em areia silicatada pura, necessitando de incrementos de argila (5 a 10%) para que eles migrassem os mesmos 20 cm. Ainda conforme os autores citados, esse comportamento sugere que as partículas de argila são importantes condicionantes ao movimento de nematoides por reterem exsudatos radiculares ou compostos liberados por organismos se alimentando das raízes, formando um gradiente químico, guiando os nematoides até a raiz. Vale salientar que a proporção de argila no solo não pode ser maior que 30% (van Gundy, 1985).

Em estudos pioneiros, Wallace (1958a-b) sugeriu que cada espécie de nematoide possui um tamanho ótimo de partícula para melhor movimentação. Em poros produzidos por partículas de diâmetro 200 µm, a locomoção é facilitada pois não há quebra na continuidade do filme d'água aderido às partículas primárias (WALLACE, 1960). De fato, Prot e Van Gundy (1981a) verificaram comportamentos diferentes entre quatro populações de *Meloidogyne* spp. Espécimes de *M. incognita* migraram 50 cm e penetraram raízes de tomateiros em nove dias, enquanto que houve redução de 15% na penetração de *M. javanica* e *M. arenaria* durante o mesmo tempo e no mesmo solo. Já Prot (1976) verificou que 66, 50 e 25% de J2 de *M. javanica* foram capazes de migrar, respectivamente, 25, 50 e 75 cm de distância da raiz de tomateiro aos nove dias.

Fujimoto et al. (2009, 2010) avaliaram a movimentação de J2s de *M. incognita* em colunas de resina acrílica preenchidas com solo (areia lavada ou Andisol) ou bolas de vidro, apresentando diferentes porosidades e distribuição de poros. As colunas com as bolas de vidro apresentaram porosidade total de aproximadamente 40%, com grande quantidade de poros de diâmetro maior ou igual a 130 µm; nas colunas com Andisol, a porosidade total foi de aproximadamente 65%, com maior proporção de poros menores de 20 µm; a coluna preenchida com areia apresentou características intermediárias. Os resultados obtidos sugerem que a complexa distribuição de poros do Andisol dificultou ou impediu o movimento dos nematoides.

Com relação à umidade do solo, Prot (1979) avaliou a movimentação de J2s de *M. javanica* em condições com e sem gradiente de umidade. Os nematoides apresentaram-se igualmente distribuídos nas colunas sem gradiente de umidade, porém se movimentaram em direção às camadas mais úmidas no experimento com gradiente de umidade. Os autores concluíram que os nematoides tendem a se mover para regiões com filmes de água mais espessos.

Além da umidade do solo, a percolação da água ao longo do perfil do solo pode provocar dispersão passiva dos nematoides. Os experimentos de Fujimoto et al. (2009, 2010) – citados anteriormente – também utilizaram ensaios com presença de fluxo contínuo de água. Os resultados obtidos por esses autores sugerem que os nematoides possuem a capacidade de resistir aos fluxos de água encontrados na natureza (irrigação, precipitação) e que são capazes apenas de suportar o fluxo, e não se movimentar contra ele.

A temperatura é um importante estímulo que influencia a migração dos nematoides no solo, pois eles são considerados poiquilotérmicos (Pudasaini et al., 2007), ou seja, eles tendem a aumentar sua atividade com o aumento de temperatura até certo limite; entretanto, existe uma faixa ótima específica de temperatura para o desenvolvimento das suas atividades que varia de acordo com as espécies. Mudanças na temperatura do solo afetam diretamente taxas de metabolismo dos nematoides, induzindo criobiose ou termobiose em diversas espécies. Para cada estágio do ciclo de vida existe uma faixa de temperatura ótima para o desenvolvimento do nematoide (FERRAZ; BROWN, 2016).

Com relação às espécies de *Meloidogyne*, Prot e van Gundy (1981b) observaram maior migração de *M. incognita* em temperaturas entre 18 e 22°C, enquanto Wallace (1966) observou maior migração de *M. javanica* na temperatura de 25 °C sendo que 80% dos J2s migraram para seções mais profundas de colunas preenchidas com areia. *Meloidogyne minor*, uma espécie emergente na Europa, foi objeto de estudo de Morris et al. (2011) em uma grande faixa de temperatura (4-30 °C), observando maior taxa de movimento na faixa de temperatura entre 15-25 °C.

A temperatura claramente exerce grande influência no movimento vertical de nematoides das galhas, porém o caminho (ascendente ou descendente) que os nematoides farão não é tão simples (CURTIS; ROBINSON; PERRY, 2009). Quando sob influência de um gradiente estático de temperatura, os J2s de *M. incognita* migram em direção a uma temperatura ótima para a sobrevivência (WALLACE, 1961; DIEZ; DUSENBERY, 1989). Adicionalmente à faixa de temperatura ótima, a direção à qual os nematoides

migram depende de diferentes taxas: i) de adaptação, ii) da propagação da onda de calor ao longo do perfil do solo e iii) de movimentação dos nematoides (CURTIS; ROBINSON; PERRY, 2009). Dusenbery (1988) realizou a modelagem dessas três taxas para organismos edáficos a fim de avaliar vários cenários possíveis. Padrões de gradiente naturais, similares aos que ocorrem no solo ao longo do dia, foram utilizados para avaliar a migração de J2s de *M. incognita* em areia (ROBINSON, 1994), onde o autor observou que o gradiente térmico induz migração ascendente de J2s inoculados a 10 cm de profundidade.

Pinkerton et al. (1987) compararam a migração vertical de três populações de *Meloidogyne*: *M. hapla*, *M. chitwoodi* raça 1 e *M. chitwoodi* raça 2, com e sem a presença de plantas de tomate. Foram utilizadas colunas de PVC (8,25 cm d x 55 cm) preenchidas com uma mistura de solo fumigado, e a aproximadamente 12 cm da extremidade inferior foram inoculados 5000 J2s de cada população. As colunas foram submetidas a três temperaturas diferentes (12, 18 e 24 °C) com 16 horas de fotoperíodo, sendo a avaliação feita 9 dias após a inoculação.

Os resultados obtidos pelos autores mostraram que os juvenis de todas as populações apresentaram maior migração a 18 °C, e a 12 °C observou-se menor migração e a maioria dos J2s permaneceram no ponto de inoculação. As espécies de *M. hapla* migraram menos que as duas raças de *M. chitwoodi*, movendo-se mais de 20 cm apenas a 18 °C. Os juvenis de ambas as raças de *M. chitwoodi* penetraram as raízes de tomate migrando mais de 30 cm. Esses resultados demonstram que as espécies de *Meloidogyne* apresentam adaptações térmicas diferentes, e valores extremos de temperatura para cada região podem alterar a migração dos nematoides.

Avaliando a migração de *Pratylenchus penetrans* nas temperaturas de 11, 16 e 21 °C, Pudasaini, Viaene e Moens (2007) observaram que os J2s migraram no máximo 11 cm quando submetidos a menor temperatura e 16 cm nas temperaturas de 16 e 21 °C; é importante salientar que maior proporção, mesmo que pequena, de J2s foi encontrada na temperatura de 21 °C.

Em geral, o movimento é um bom parâmetro para avaliar a sobrevivência do nematoide. Entretanto, em condições de estresse subletal, os nematoides perdem o movimento, mais ainda são considerados viáveis (van GUNDY, 1965; ZUCKERMANN, 1971). Heald e Robinson (1987) observaram que juvenis de *Rotylenchulus reniformis* retornam à mobilidade 10 dias após terem seu movimento interrompido quando expostos a altas temperaturas.

2.2. Influência do Estímulo vegetal

Entre os fatores bióticos, a planta hospedeira é o mais importante por influenciar diretamente vários aspectos bioecológicos dos nematoides, ao mesmo tempo, como duração do ciclo, razão sexual, taxa reprodutiva, dinâmica populacional e distribuição no solo (FERRAZ; BROWN, 2016). A migração dos nematoides sob influência do hospedeiro é considerada essencial, pois a habilidade de locomoção na zona radicular de plantas hospedeiras é um pré-requisito para a infecção.

Na fase infectiva, os J2s de *Meloidogyne* spp. migram no solo a procura de raízes como fonte de alimentação, sendo essa movimentação resposta à atração por substâncias exsudadas pela raiz (ENDO, 1975; GRIFFIN; WAITE, 1971; MONTEIRO, 2016; ROCHA, 2007; YOUNG, 1992; ZHAO; SCHMITT; HAWES, 2000). Diversos tipos de compostos são produzidos pelas plantas, os quais são liberados para as raízes, como açúcares e aminoácidos (baixo peso molecular), moléculas lipofílicas, polissacarídeos e proteínas (alto peso molecular) (HAICHAR et al., 2014; RASMANN et al., 2012). Esses exsudatos (aleloquímicos) promovem respostas diversas em nematoides fitoparasitas, como por exemplo, estimular a eclosão de ovos e repelir ou atrair certas espécies de nematoides (HILTPOLD; JAFFUEL; TURLINGS, 2014).

As papilas labiais e os anfídios são os principais órgãos sensoriais dos nematoides, identificados na região labial, os fasmídeos na cauda, e o hemizonídio, na região esofágica (FERRAZ; MONTEIRO, 1995; PERRY; AUMANN, 1998; WRIGHT, 1981). Além desses órgãos, os carboidratos na superfície da cutícula dos nematoides atuam como fatores essenciais na interação específica entre o nematoide e seu hospedeiro (ROCHA, 2007). Após o recebimento do estímulo químico pelo órgão sensorial do nematoide, as células interagem até chegar ao sistema nervoso central, onde será respondido através de uma ação comportamental (JONSSON, 1987).

Com base na influência causada ao movimento dos nematoides, os exsudatos radiculares podem ser classificados em: i) atrativos a longas distâncias, os quais atraem os nematoides em direção a áreas com presença de hospedeiros; ii) atrativos a curtas distâncias, conduzindo os nematoides para as raízes em si; e iii) atrativos locais, que permitem que os nematoides endoparasitos se locomovam em direção a sítios de invasão favoráveis nas raízes (CURTIS, 2008; MBEGA; NZOGELA, 2012; SPENCE; LEWIS; PERRY, 2008; REYNOLDS et al., 2011).

As plantas consideradas susceptíveis são aquelas que permitem o desenvolvimento normal dos nematoides, funcionando assim de maneira oposta às

consideradas resistentes, que por sua vez possuem a habilidade de suprimir o desenvolvimento ou a reprodução dos nematoides (ROBERTS, 2002). Os aleloquímicos liberados na região da rizosfera podem atuar como atrativos a curta distância e influenciar o comportamento dos nematoides, e isso pode originar-se de diferentes partes das raízes, assim como de superfícies de raízes lesionadas, locais de penetrações anteriores ou na zona de emergência de raízes laterais (CURTIS; ROBINSON; PERRY, 2009). Estudos com *M. incognita* revelaram que algumas substâncias atuam como atrativos a esses nematoides, como baixas concentrações de ácido salicílico, algumas substâncias redutoras, 0,1 M de ditionito de sódio (BIRD, 1959; WUYTS; SWENNEN; de WAELE, 2006), e ácido tânico (HEWLETT; HEWLETT; DICKSON, 1997).

Apenas os estímulos químicos, temperatura, dióxido de carbono, vibração e estímulo tátil são reconhecidos pelos nematoides no solo (GREEN, 1971). Com isso, um gradiente de concentração da solução do solo é produzido pelas substâncias atrativas exsudadas pela raiz, orientando a locomoção dos nematoides até as mesmas (LAVALLEE; ROHDE, 1962; VIRGLIERCHIO, 1961). Prot (1980) certificou que esses microrganismos podem se orientar em direção às raízes a uma distância média de 75 cm, como o auxílio de estímulos como temperatura e CO₂.

Além do efeito dos exsudatos radiculares, os nematoides produzem movimentos aleatórios que também permitem que eles cheguem às raízes, por meio de substâncias liberadas por microrganismos se alimentando das raízes ou por gradientes de atributos edáficos, como concentração de gases e sais, pH, entre outros (BEHN, 2012; DAVIS; EARL; TIMPER, 2014; DIEZ; DUSENBERY, 1989; MORRIS et al., 2011; SALAME; GLAZER, 2015; SPENCE; LEWIS; PERRY, 2008), percebidos pelos órgãos sensoriais.

Por meio de simulações e bioensaios, Reynolds et al. (2011) confirmaram que o comportamento quimiotático de fitonematoides pode levá-los por um caminho mais curto à fonte da substância atrativa. Com o objetivo de avaliar a atração por vias curtas e longa em olfatômetros em forma de Y utilizando gel plurônico (na tentativa de imitar as condições edáficas), Reynolds et al. (2011) utilizaram três tipos de hospedeiras: tomate (boa hospedeira para *M. incognita*), arroz (boa hospedeira para *M. graminicola*) e mostarda (não hospedeira para ambas as espécies); e controle (sem planta). Os resultados mostraram que maior quantidade J2s de *M. incognita* movimentou-se em direção às raízes de tomateiro, em comparação com arroz, e não houve migração significativa em direção às raízes de mostarda; maior quantidade de J2s de *M. graminicola* também estava próxima a raízes de arroz; sendo constatado o mesmo comportamento em relação à mostarda e controle.

Enfatizando os resultados anteriormente comentados, Dutta et al. (2011) observaram que J2s de *M. incognita* foram atraídas para raízes de tomate (boa hospedeira) e J2s de *M. graminicola* foram atraídas para raízes de arroz (boa hospedeira). Em relação a raízes de mostarda, as espécies mostraram comportamento similar, indicando que nematoides possuem a capacidade de perceber sinais de compostos aleloquímicos produzidos pelas raízes e movimentam-se em direção às raízes consideradas boas hospedeiras. De fato, Haichar et al. (2014) cita que existem complexas interações entre as raízes das plantas e os microrganismos, as quais são mediadas pelos exsudatos radiculares. Além disso, os exsudatos das zonas apicais das raízes são fonte de defesa das plantas ao ataque de nematoides, provocando quiescência (HILTPOLD; JAFFUEL. TURLINGS, 2014). Em revisão sobre a evolução da quimiotaxia em nematoides, Rasmann et al. (2012) mapearam a filogenia e compostos químicos que estimulam a atração de nematoides de diferentes hábitos alimentares. Tal mapeamento mostrou que diferentes guildas funcionais evoluíram repetidamente implicando em evolução convergente, e que os nematoides apresentam um conservantismo filogenético no uso de compostos químicos.

Algumas culturas consideradas antagônicas ou armadilhas apresentam efeito nematicida, podendo ser utilizadas como alternativa eficiente para controle de fitonematoides (MUNHOZ et al., 2007). Müller et al. (2016) avaliaram a eficácia de extratos de alecrim no controle de *M. incognita* e concluíram que a dose do extrato é importante para diminuir a formação de galhas e número de juvenis eclodidos. Vários estudos demonstraram que a aplicação de extratos e óleos de diversas partes de *Tagetes* spp. ou sua incorporação ao solo apresenta efeito supressivo em diversos nematoides parasitos de planta, especialmente *Meloidogyne* e *Pratylenchus* (ADENKULE et al., 2007; KALAISELVAM; DEVARAJ, 2011; MARAHATTA et al., 2012; MUNHOZ et al., 2017; NATARAJAN et al., 2006). No entanto, poucos experimentos encontrados na literatura avaliaram como a migração de nematoides parasitos de plantas é afetada por raízes de *Tagetes* spp.

Em estudo com colunas de solo contendo extratos de tomate e *T. patula*, Nježić et al. (2014) não detectaram diferença na migração de J2s de *M. chitwoodi* e *Pratylenchus penetrans*. Por outro lado, *P. coffeae* migrou em direção a pedaços de túberas de inhame e em direção contrária às raízes trituradas de *T. patula* em colunas de solo (FRANCILINO et al., 2017).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, P.; CASTAGNONE-SERENO, P.; ENGLER, J. A.; FAVERY, B. Invasion, feeding and development. In: PERRY, R.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds). **Root-knot nematodes**. Cambridge: CAB International, 2009. p. 163-181.

ADEKUNLE, O. K.; ACHARYA, R.; SINGH, B. Toxicity of pure compounds isolated from *Tagetes minuta* oil to *Meloidogyne incognita*. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 2, n. 1, p. 101-104, 2007.

AHMED, M.; SAPP, M.; PRIOR, T.; KARSSSEN, G.; BACK, M. Nematode taxonomy: from morphology to metabarcoding. **SOIL Discussion**, v. 2, p. 1175-1220, 2015.

ANDRADE JÚNIOR, V. C.; GOMES, J. A. A.; OLIVEIRA, C. M.; AZEVEDO, A. M.; FERNANDES, J. S. C.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R. Resistência de clones de batata-doce a *Meloidogyne javanica*. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 1, p. 130-136, 2016.

ANDRADE, P. J.; ASMUS, G. L. The spread of soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) by wind during soil preparation. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 21, p. 98-100, 1997.

ANWAR, S. A; MCKENRY, M. V. Incidence and population density of plant-parasitic nematodes infecting vegetable crops and associated yield losses in Punjab, Pakistan. **Pakistan Journal Zoology**, Lahore, v. 44, n. 2, p. 327-333, 2012.

BARKER, K. R.; KOENNING, S. R. Developing sustainable systems for nematode management. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, p. 165-205, 1998.

BAXTER, C.; ROWAN, J. S.; MCKENZIE, B. M.; NEILSON, R. Understanding soil erosion impacts in temperate agroecosystems: Bridging the gap between geomorphology and soil ecology using nematodes as a model organism. **Biogeosciences**, v. 10, p. 7133-7145, 2013.

BEARE, M. H.; PARMELEE, R. W.; HENDRIX, P. F.; CHENG, W.; COLEMAN, D. C.; CROSSLEY, J. Microbial and faunal interactions and effects on litter nitrogen and decomposition in agroecosystems. **Ecological Monographs**, Nova Iorque, v. 62, n. 4, p. 569-591, 1992.

BEHN, J. L. **Comparison of methods and corn root types for efficient extraction of endoparasitic nematodes**. 2012, 125f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Nebraska, Lincoln, 2012.

- BIRD, A. F. The attractiveness of roots to the plant parasitic nematodes *Meloidogyne javanica* and *M. hapla*. **Nematologica**, Leiden, v. 4, p. 322-335, 1959.
- BLAXTER, M. L. Nematoda: genes, genomes and the evolution of parasitism. **Advances in Parasitology**, v. 54, p. 101-195, 2003.
- BLAXTER, M. Nematodes: The worm and its relatives. **PLoS Biology**, São Francisco, v. 9, n. 4, p. e1001050, 2011.
- BOAG, B. The localised spread of virus-vector nematodes adhering to farm machinery. **Nematologica**, v. 31, p. 234–235, 1985.
- BONGERS, T. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. **Oecologia**, Cambridge, v. 83, n. 1, p. 14-19, 1990.
- BRITO, J.; POWERS, T. O.; MULLIN, P.G.; INSERRA, R. N.; DICKSON, D. W. Morphological and molecular characterization of *Meloidogyne mayaguensis* isolates from Florida. **Journal of Nematology**, Flórida, v. 36, n. 3, p. 232-240, 2004.
- BRITO, J. A.; STANLEY, J. D.; MENDES, M. L.; CETINTAS, R.; DICKSON, D. W. Host status of selected cultivated plants to *Meloidogyne mayaguensis* in Florida. **Nematropica**, v. 37, n. 1, p. 65-71, 2007.
- BRODIE, B. B.; QUATTLEBAUM, B. H. Vertical distribution and population fluctuation of three nematode species as correlated with soil temperature, moisture, and texture. **Phytopathology**, v. 60, p. 1286, 1970.
- BRUINSMA, J. S. S.; ANTONIOLLI, Z. I. Resistance of *Meloidogyne javanica* in soybean genotypes. **Nematoda**, Campos dos Goytacazes, v. 2, p. e032015, 2015.
- BURR, A. H. J.; ROBINSON, A. F. Locomotion behaviour. In: GAUGLER, R.; BILGRAMI, A. L. (Eds.). **Nematode behaviour**. Wallingford: CAB International, 2004. p. 25-62.
- CARDOSO, M. O.; PEDROSA, E. M. R.; ROLIM, M. M.; SILVA, E. F. F.; BARROS, P. Â. Effects of soil mechanical resistance on nematode community structure under conventional sugarcane and remaining of Atlantic Forest. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 6, p. 3529-3544, 2012.

CARES, J. E.; BLUM, E. B.; EDNALVA, P. A. Nematologia Vegetal: Uma introdução. In: BLUM, E. B.; CARES, J. E.; UESUGI, C. H. (Eds.). **Fitopatologia**: o estudo das doenças de plantas. 1. ed. Brasília: Otimismo, 2006. p. 128-166.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* spp. populations. **Nematology**, v. 2, p. 645-654, 2000.

CARNEIRO, R. M. D. G.; MOREIRA, W. A.; ALMEIDA, M. R. A.; GOMES, A. C. M. M. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 223-228, 2001.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; BRAGA, R. S.; ALMEIDA, C. A.; GIORIA, R. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* parasitando plantas de tomate e pimentão resistentes à Meloidoginose no estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 81-86, 2006.

CARNEIRO, R. M. D. G.; HIDALGO-DÍAZ, L.; MARTINS, I.; SILVA, K. F. A. S.; SOUSA, M. G.; TIGANO, M. S. Effect of nematophagous fungi on reproduction of *Meloidogyne enterolobii* on guava (*Psidium guajava*) plants. **Nematology**, Flórida, v. 13, n. 6, p. 721-728, 2011.

CARRILLO, M. A.; HALLEM, E. A. Gas sensing in nematodes. **Molecular Neurobiology**, v. 51, p. 919-931, 2015.

CHARCHAR, J. M.; ARAGÃO, F. A. S. Reprodução de *Meloidogyne* spp. em cultivares de tomate e pepino sob estufa plástica e campo. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 243-249, 2005.

CHITWOOD, D. J.; PERRY, R. N. Reproduction, physiology and biochemistry. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds.). **Root-knot Nematodes**. Wallingford: CAB International, 2009. p. 182-200.

COGHLAN, A. Nematode genome evolution. **Conway Institute of Biomolecular and Biomedical Research**, Dublin, p. 1-15, 2005.

COHEN, N.; BOYLE, J. H. Swimming at low Reynolds number: A beginner's guide to undulatory locomotion. **Contemporary Physics**, Londres, v. 51, n. 2, p. 103-123, 2010.

COSTA, J. C.; LILLEY, C. J.; URWIN, P. E. *Caenorhabditis elegans* as a model for plant-parasitic nematodes. **Nematology**, v. 9, n. 1, p. 3-16, 2007.

CURTIS, R. H. C. Plant-nematode interactions: Environmental signals detected by the nematode's chemosensory organs control changes in the surface cuticle and behaviour. **Parasite**, v. 15, p. 310-316, 2008.

CURTIS, R. H. C.; ROBINSON, A. F.; PERRY, R. N. Hatch and host location. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds.). **Root-knot Nematodes**. Wallingford: CAB International, 2009. p. 139-162.

DAS, S.; WESEMAEL, W. M. L.; PERRY, R. N. Effect of temperature and time on the survival and energy reserves of juveniles of *Meloidogyne* spp. **Agricultural Science Research**, v. 1, n. 5, p. 102-112, 2011.

DAVIS, R. F.; EARL, H. J.; TIMPER, P. Effect of simultaneous water deficit stress and *Meloidogyne incognita* infection on cotton yield and fiber quality. **Journal of Nematology**, v. 46, n. 2, p. 108-118, 2014.

de la PEÑA, E.; VANDEGEHUCHTE, M. L.; BONTE, D.; MOENS, M. Nematodes surfing the waves: long-distance dispersal of soilborne microfauna via sea swept horizons. **Oikos**, v. 120, p. 1649–1656, 2011.

de ROOIJ-van der GOES, P. C. E. M.; van DIJK, C.; van der PUTTEN, W. H.; JUNGRIUS, P. D. Effects of sand movement by wind on nematodes and soil-borne fungi in coastal fore dunes. **Journal of Coastal Conservation**, v. 3, p. 133–142, 1997.

DIEZ, J. A.; DUSENBERY, D. B. Repellent of root-knot nematodes from exudate of host roots. **Journal of Chemical Ecology**, v. 15, n. 10, p. 2445-2455, 1989.

DUTTA, T. K.; POWERS, S. J.; KERRY, B. R.; GAUR, H. S.; CURTIS, R. H. C. Comparison of host recognition, invasion, development and reproduction of *Meloidogyne graminicola* and *M. incognita* on rice and tomato. **Nematology**, v. 13, n. 5, p. 509-520, 2011.

EIJSACKERS, H. Earthworms as colonizers of natural and cultivated soil environments. **Applied Soil Ecology**, v. 50, p. 1–13, 2011.

EISENBACK, J. D. Diagnostic characters useful in the identification of the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. (Eds). **An Advanced Treatise on Meloidogyne**. v. 1. Raleigh: Carolina State University Graphics, 1985a. p. 95–112.

EISENBACK, J. D. Detailed morphology and anatomy of second-stage juveniles, males and females of the genus *Meloidogyne* (root-knot nematodes). In: CARTER, C. C.,

SASSER, J. N. (Eds.). **An advanced treatise on *Meloidogyne***. v. 2. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985b. p. 47-78.

EISENBACK, J. D. Techniques for preparing nematodes for scanning electron microscopy. In: CARTER, C. C.; SASSER, J. N. (Eds.). **An advanced treatise on *Meloidogyne***. v.2. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985c. p. 79-105.

EISENBACK, J. D.; TRIANTAPHYLLOU, H. H. Root-knot nematode: *Meloidogyne* spp. and races. IN: NICKLE, W. R. (Ed.). **Manual of agricultural nematology**. Nova Iorque: Marcel Dekker, 1991. p. 191–274.

ELLING, A. A. Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. **Phytopathology**, v. 103, n. 11, p. 1092-1102, 2013.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa. **Cultivo de tomate para industrialização**. Doenças causadas por nematoides, 2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial/doencas_nema.htm>. Acesso em: 07 jan. 2019.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa. **Identificação de espécies de *Meloidogyne* em tomateiro no Brasil**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2014. 16p. (Boletim Pesquisa e Desenvolvimento, 102).

ENDO, B. Y. Pathogenesis of nematode-infected plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 13, p. 213-238, 1975.

European and Mediterranean Plant Protection Organization. EPPO. **An emerging root-knot nematode, *Meloidogyne enterolobii***: addition to the EPPO alert list. EPPO Reporting Service, 5, 2008. 3p.

European and Mediterranean Plant Protection Organization. EPPO. EPPO data sheets on quarantine pests: *Meloidogyne enterolobii*. **EPPO Bulletin**, v. 44, n. 2, p. 159-163. 2014.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Editora, 2016. 251p.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematóides. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Ceres, 1995. p. 168-201.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: AMORIM, L.; KIMATI, H.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). **Manual de fitopatologia**: Princípios e conceitos. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011, p. 168-199.

FERREIRA, P. A.; FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. Sintomas causados por fitonematoides. In: ZAMBOLIN, L.; JESUS JUNIOR, W. C.; PEREIRA, O. L. (Eds.). **O essencial da fitopatologia**. Viçosa-MG: Editora Suprema, 2012. p. 203-222.

FERRIS, J. M.; FERRIS, V. R. Biology of plant-parasitic nematodes. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAM, G. L. **Plant and nematode interactions**. Hardcover: American Society of Agronomy, 1998. p. 21-35.

FRANCILINO, A. H.; PEDROSA, E. M. R.; SILVA, E. F. F.; ROLIM, M. M.; CARDOSO, M. S. O.; MARANHÃO, S. R. V. L. Efeito do fluxo de água, isca vegetal e volume de poros do solo na mobilidade de *Pratylenchus coffeae*. **Nematropica**, v. 47, n. 1, p. 63-73, 2017.

FRECKMAN, D. W.; BALDWIN, J. G.: Nematoda. In: DINDAL, D. L. (Ed.). **Soil Biology Guide**. Nova Iorque: John Wiley & Sons, 1990. p. 155-200.

FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução à nematologia**. Viçosa: UFV, 2001. 84p.

FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução a Nematologia**. 1 ed. Viçosa: UFV, 2004. 84p. (Caderno didático, 58).

FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução à nematologia**. 3 ed. Viçosa-MG: UFV, 2006. 83p.

FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. Nematoides como patógenos de plantas. In: ZAMBOLIN, L., JESUS JUNIOR, W. C.; PEREIRA, O. L. (Eds.). **O essencial da fitopatologia**. Viçosa-MG: Editora Suprema, 2012. p. 89-128.

FUJIMOTO, T.; HASEWAGA, S.; OTOBE, K.; MIZUKUBO, T. Effect of water flow on the mobility of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in columns filled with glass beads, sand or andisol. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 43, p. 200-205, 2009.

FUJIMOTO, T.; HASEGAWA, S.; OTOBE, K.; MIZUKUBO, T. The effect of soil water flow and soil properties on the motility of second-stage juveniles of the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 1065-1072, 2010.

GALLARDO, J. Á. M.; VALDÉS, T. D.; RUVALCABA, L. P.; MOLAR, R. A.; TORRES, J. V.; FASIO, J. A. C. Nematodos fitoparasitos y su relación com factores edáficos de papaya em Colima, México. **Revista Mexicana de Ciências Agrícolas**, v. 6, n. 1, p. 251-257, 2015.

GOMES, V. M.; SOUZA, R. M.; CORRÊA, F. M.; DOLINSKI, C. Management of *Meloidogyne mayaguensis* in commercial guava orchards with chemical fertilization and organic amendmets. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 34, n. 1, p. 23-30, 2010.

GRAY, J. The kinetics of locomotion of *Nereis diversicolor*. **Journal of Experimental Biology**, v. 16, n. 1, p. 9-17, 1939.

GREEN, C. D. Mating and host finding behaviour of plant nematodes. In: ZUCKERMAN, B. M.; MAI, W. F.; ROHDE, R. A. (Eds.). **Plant parasitic nematodes**. vol. II: Cytogenetics, Host-parasite interaction and physiology. Nova Iorque: Academic press, 1971. p. 247-266.

GRIFFIN, G. D.; WAITE, W. W. Attraction of *Ditylenchus dipsaci* and *Meloidogyne hapla* by resistant and susceptible alfalfa seedling. **Journal of Nematology**, v. 3, n. 3, p. 215-219, 1971.

GUIMARÃES, L. M. P.; MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R. Parasitismo de *Meloidogyne mayaguensis* em diferentes espécies botânicas. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 139-147, 2003.

HAICHAR, F. Z.; SANTAELLA, C.; HEULIN, T.; ACHOUAK, W. Root exudates mediated interactions belowground. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 77, p. 69-80, 2014.

HEALD, C. M.; ROBINSON, A. F. Effects of soil solarization on *Rotylenchulus reniformis* in the lower Rio Grande Valley of Texas. **Journal of Nematology**, v. 19, n. 1, p. 93-103, 1987.

HERMAN, M.; HUSSEY, R. S.; BOERMA, H. R. Penetration and development of *Meloidogyne incognita* on roots of resistant soybean genotypes. **Journal of Nematology**, v. 23, n. 2, p. 155-161, Arp. 1991.

HEWLETT, T. E.; HEWLETT, E. M., DICKSON, D. W. Response of *Meloidogyne* spp., *Heterodera glycines*, and *Radopholus similis* to tannic acid. **Journal of Nematology**, v. 29, n. 4, p. 742-745, 1997.

HILTPOLD, I.; JAFFUEL, G.; TURLINGS, T. C. J. The dual effects of root-cap exudates on nematodes: from quiescence in plant-parasitic nematodes to frenzy in entomopathogenic nematodes. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 2, p. 603-611, 2015.

HUGO, H. J.; MALAN, A. P. Occurrence and control of plantparasitic nematodes in irrigation water – a review. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 31, p. 169–180, 2010.

HUNT, D. J.; HANDOO, Z. A. Taxonomy, identification and principal species. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds.). **Root-knot Nematodes**. Wallingford: CAB International, 2009. p. 55-97.

HUNT, H. W.; WALL, D. H.; DeCRAPPEO, N. M.; BRENNER, J. A model for nematode locomotion in soil. **Nematology**, v. 3, n. 7, p. 705-716, 2001.

JONES, J. T.; HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G. J.; GAUR, H. S.; HELDER, J.; JONES, M. G. K.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.; PALOMARES-RIUS, J. E.; WESEMAEL, W. M. L.; PERRY, R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 14, n. 9, p. 946-961, 2013.

JONSSON, H. B. Receptors and recognition in nematodes. In: VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. **Vistas on nematology: A commemoration of the twenty-fifth anniversary of the Society of Nematologists**. Hyattsville: Society of Nematologists, 1987. p. 153-158.

KALAISELVAM, I. DEVARAJ, A. Effect of root exudates of *Tagetes* sp. on egg hatching behavior of *Meloidogyne incognita*. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 2, n. 10, p. 93-96, 2011.

KARSSSEN, G.; MOENS, M. Root-knot nematodes. In: PERRY, R. L.; MOENS, M. (Eds.). **Plant Nematology**. Wallingford: CAB International, 2006. p. 59-90.

LAMBSHEAD, P. Marine nematode diversity. In: CHEN, W. Y.; CHEN, S. Y.; DICKSON, S. W. (Eds.). **Advances and Perspectives: Nematode Morphology, Physiology and Ecology**. Wallingford: CAB International, 2004. p. 438–468.

LAVALLEE, W. H.; ROHDE, R. A. Attractiveness of plant roots to *Pratylenchus penetrans* (Cobb). **Nematologica**, Leiden, v. 8, p. 252-260, 1962.

- LEVI, T.; SHERMAN, C.; PEN-MOURATOV, S.; STEINBERGER, Y. Changes in soil free-living nematode communities and their trophic composition along a climatic gradient. **Open Journal of Ecology**, v. 2, n. 2, p. 79-89, 2012.
- LIMA, I. M.; DOLINSKI, C.; SOUZA, R. M. Dispersão de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabais de São João da Barras (RJ) e relato de novos hospedeiros dentre plantas invasoras e cultivadas. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 257-258, 2003.
- MARAHATTA, S. P.; WANG, K.; SIPES, B. S.; HOOKS, C. R. R. Effects of *Tagetes patula* on active and inactive stages of root-knot nematodes. **Journal of Nematology**, v. 44, n. 1, p. 26-30, 2012.
- MARIN, M. V.; SANTOS, L. S.; GAION, L. A.; RABELO, H.; FRANCO, C. A.; DINIZ, G. M.; SILVA, E. H. C.; BRAZ, L. T. Selection of resistant rootstocks to *Meloidogyne enterolobii* and *M. incognita* for okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 77, n. 1, p. 58-64, 2017.
- MARINO, R. H.; GOMES, L. A. A.; CRUZ, E. M. O.; SILVA, A. D. C.; BIANCHINI, F. G.; MENESES, T. N.; BLANK, A. F. Controle de *Meloidogyne incognita* raça 1 com óleo essencial de *Lippia alba*. **Scientia Plena**, v. 8, p. 1-8, 2012.
- MBEGA, E. R.; NZOGELA, Y. B. Strategies used by plant parasitic nematodes to conquer the host. **Journal of Animal & Plant Science**, v. 14, n. 1, p. 1848-1854, 2012.
- MIR, A. R.; TANVEER, S. Community structure of soil inhabiting nematodes in an apple orchard at Bandipore, Kashmir, India. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 4, n. 2, p. 200-206, 2016.
- MOENS, M.; PERRY, R. N.; STARR, J. L. *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important plant parasites. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds). **Root-knot nematodes**. Cambridge: CAB International, 2009. p. 1-17.
- MONTEIRO, J. M. S. **Caracterização morfológica, enzimática e molecular de populações brasileiras de *Meloidogyne* spp.**: Identificação e sinonimização de espécies. 2016, 167f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Distrito Federal, 2016.
- MOORE, S. R.; LAWRENCE, K. S.; ARRIAGA, F. J.; BURMESTER, C. H.; van SANTEN, E. Natural migration of *Rotylenchulus reniformis* in a no-till cotton system. **Journal of Nematology**, v. 42, n. 4, p. 307-312, 2010.

MOREIRA, F. J. C.; ARAÚJO, B. A.; LOPES, F. G. N.; SOUSA, A. A. L.; SOUSA, A. E. C.; ANDRADE, L. B. S.; UCHOA, A. F. Assessment of the *Tephrosia toxicaria* essential oil on hatching and mortality of eggs and second-stage juveniles (J₂) root-knot nematode (*Meloidogyne enterolobii* and *M. javanica*). **Australian Journal of Crop Science**, v. 12, n. 12, p. 1829-1836, 2018.

MORRIS, K. S.; HORGAN, F. G.; DOWNES, M. J.; GRIFFIN, C. T. The effect of temperature on hatch and activity of second-stage juveniles of the root-knot nematode, *Meloidogyne minor*, an emerging pest in north-west Europe. **Nematology**, v. 13, n. 8, p. 985-993, 2011.

MÜLLER, M. A.; MIORANZA, T. M.; STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; BATTISTUS, A. G.; ISTCHUK, A. N.; FUCHS, F. *In vitro* toxicity and control of *Meloidogyne incognita* in soybean by rosemary extract. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 1, p. 103-110, 2016.

MUNHOZ, V. M.; BAIDA, F. C.; LOPES, G. C.; SANTIAGO, D. C.; SOUZA, J. R. P.; MELLO, J. C. P. Extract and semi-purified fractions of *Tagetes patula* flowers in the control of root-knot nematodes. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 6, p. 3529-3538, 2017.

NATARAJAN, N.; CORK, A.; BOOMATHI, N.; PANDI, R.; VELAVAN, S.; DHAKSHNAMOORTHY, G. Cold aqueous extracts of African marigold, *Tagetes erecta* for control tomato root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Crop Protection**, v. 25, n. 11, p. 1210-1213, 2006.

NEHER, D. A.; WEICHT, T. R.; SAVIN, M.; GÖRRES, J. H.; AMADOR, J. A. Grazing in a porous environment. 2. Nematode community structure. **Plant and Soil**, v. 212, p. 85-99, 1999.

NICOL, J. M.; TURNER, S. J.; COYNE, D. L.; NIJS, L.; HOCKLAND, S.; MAAFI, T. Z. Current nematode threats to world agriculture. In: JONES, J.; GHEYSEN, G.; FENOLL, C. (Eds.) **Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions**. Dordrecht: Springer, 2011. p. 21-43.

NIEBUR, E.; ERDÖS, P. Theory of the locomotion of nematodes. Dynamics of undulatory progression on a surface. **Biophysical Journal**, v. 60, p. 1132-1146, 1991.

NJEŽIĆ, B.; SUTTER, N.; MOENS, M. Interaction of *Tagetes patula* cv. Single Gold with the life cycle of the plant-parasitic nematodes *Meloidogyne chitwoodi* and *Pratylenchus penetrans*. **Russian Journal of Nematology**, v. 22, n. 2, p. 101-108, 2014.

PEREIRA, F. O. M.; SOUZA, R. M.; SOUZA, P. M.; DOLINSKI, C.; SANTOS, G. K. Estimativa do impacto econômico e social direto de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, n. 2, p. 176-180, 2009.

PERRY, R. N.; AUMANN, J. Behaviour and sensory responses. In: PERRY, R. N.; WRIGHT, D. J. **The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes**. Wallingford: CAB International, 1998. p. 75-269.

PINKERTON, J. N.; MOJTAHEDI, H.; SANTO, G. S.; O'BANNON, J. H. Vertical migration of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. hapla* under controlled temperature. **Journal of Nematology**, v. 19, n. 2, p. 152-157, 1987.

PODESTÁ, G. S. **Interação entre *Pochonia chlamydosporia* e rizobactérias no controle de *Meloidogyne javanica***. 2015, 83f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2015.

PROT, J. Amplitude et cinétique des migrations du nématode *Meloidogyne javanica* sous l'influence d'un plant de tomate. **Cahies Orstom - Série Biology**, v. 11, p. 157-166, 1976.

PROT, J. Vertical migration of four natural populations of *Meloidogyne*. **Revue de Nématologie**, v. 1, p. 109-112, 1978.

PROT, J. Horizontal migrations of second-stage juveniles of *Meloidogyne javanica* in sand in concentration gradients of salts and in a moisture gradient. **Revue de Nématologie**, v. 2, n. 1, p. 17-21, p. 1979.

PROT, J. Migration of plant-parasitic nematodes towards plant roots. **Revue de Nématologie**, v. 3, n. 2, p. 305-318, 1980.

PROT, J.; van GUNDY, S. D. Effect of soil texture and the clay component on migration of *Meloidogyne incognita* second-stage juveniles. **Journal of Nematology**, v. 13, n. 2, p. 213-217, 1981a.

PROT, J.; van GUNDY, S. D. Influence of photoperiod and temperature on migration of *Meloidogyne* juveniles. **Journal of Nematology**, v. 13, n. 2, p. 217-220, 1981b.

PUDASAINI, M. P.; VIAENE, N.; MOENS, M. The influence of host and temperature on the vertical migration of *Pratylenchus penetrans*. **Nematology**, v. 9, n. 3, p. 437-447, 2007.

RASMANN, S.; ALI, J. G.; HELDER, J.; van der PUTTEN, W. H. Ecology and evolution of soil nematode chemotaxis. **Journal of Chemical Ecology**, v. 38, p. 615-628, 2012.

REYNOLDS, A. M.; DUTTA, T. K.; CURTIS, R. H. C.; POWERS, S. J.; GAUR, H. S.; KERRY, B. R. Chemotaxis can take plant-parasitic nematodes to the source of a chemo-attractant via the shortest possible routes. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 8, n. 57, p. 568-577, 2011.

ROBERTS, P. A. Concepts and consequences of resistance. In: STARR, J. L.; COOK, R.; BRIDGE, J. (Eds.). **Plant resistance to parasitic nematodes**. Guildford and King's Lynn, Biddles Ltda., 2002. p. 23-42.

ROBINSON, A. F. Movement of five nematode species through sand subjected to natural temperature gradient fluctuations. **Journal of Nematology**, v. 26, n. 1, p. 46-58, 1994.

ROBINSON; A. F.; PERRY, R. N. Behaviour and sensory perception. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. (Eds.). **Plant Nematology**. Wallingford: CAB International, 2006. p. 210-233.

ROCHA, F. S. **Aspectos da coloração, ciclo de vida, parasitismo por *Pasteuria penetrans* e suas relações com a reserva energética de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne* spp.** 2007, 164f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

RODRÍGUEZ, M.G.; GÓMEZ, L.; PETEIRA, B. *Meloidogyne mayaguensis* Rammah y Hirschmann, plaga emergente para la agricultura tropical y subtropical. **Revista Protección Vegetal**, v. 22, p. 183-196, 2007.

ROSA, J. M. O.; WESTERICH, J. N.; WILCKEN, S. R. Nematoides das galhas em áreas de cultivo de olerícolas no Estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 37, n. 1-2, p. 16-19, 2013.

SALAME, L.; GLAZER, I. Stress avoidance: Vertical movement of entomopathogenic nematodes in response to soil moisture gradient. **Phytoparasitica**, v. 43, p. 647-655, 2015.

SIKORA, R. A.; FERNANDEZ, E. Nematodes parasites of vegetables. In: LUC, M.; SIKORA, R.A.; BRIDGE, J. (Ed.). **Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**. Wallingford: CAB International, 2005. p. 319-392.

SILVA, J. C. P.; TERRA, W. C.; FREIRE, E. S.; CAMPOS, V. P.; CASTRO, J. M. C. Aspectos gerais e manejo de *Meloidogyne enterolobii*. In: NEFIT. (Org.). **Sanidade de raízes**. São Carlos, SP: Suprema Gráfica e Editora, 2014. p. 59-77.

SILVA, J. O. ***Meloidogyne incognita na cultura do tomate***: Levantamento e manejo com produtos biológicos. 2015, 77f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, 2015.

SLEETH, B.; REYNOLDS, H. W. Root-knot nematode infestation as influenced by soil texture. **Soil Science**, v. 80, n. 6, p. 459-461, 1955.

SPENCE, K. O.; LEWIS, E. E.; PERRY, R. N. Host-finding and invasion by entomopathogenic and plant-parasitic nematodes: Evaluating the ability of laboratory bioassays to predict field results. **Journal of Nematology**, v. 40, n. 2, p. 95-98, 2008.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 1993. 372p.

van GUNDY, S. D. Factors in survival of nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 3, p. 43-68, 1965.

van GUNDY, S. D. Ecology of *Meloidogyne* spp. - emphases on environmental factors affecting survival and pathogenicity. In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. **An advanced treatise on Meloidogyne**. v. 1. Raleigh: North Carolina University Graphics, 1985. p. 177-182.

van GUNDY, S. D.; BIRD, A. F.; WALLACE, H. R. Aging and starvation in juvenile of *Meloidogyne javanica* and *Tylenchulus semipenetrans*. **Phytopathology**, v. 57, n. 6, p. 559-571, 1967.

VERVOOT, M. T. W.; VONK, J. A.; MOOIJMAN, P. J. W.; van den ELSEN, S. J. J.; van MEGEN, H. H. B.; VEENHUIZEN, P.; LANDEWEERT, R.; BAKKER, J.; MULDER, C.; HELDER, J. SSU ribosomal DNA-based monitoring of nematode assemblages reveals distinct seasonal fluctuations within evolutionary heterogeneous feeding guilds. **PLoS One**, São Francisco, v. 7, n. 10, p. e47555, 2012.

VIRGLIERCHIO, D. R. Attraction of parasitic nematodes by plant root emanations. **Phytopathology**, v. 51, n. 2, p. 136-142, 1961.

WALLACE, H. R. Movement of eelworms. I. The influence of pore size and moisture content of the soil on the migration of larvae of the beet eelworm, *Heterodera schachtii* Schmidt. **Annals of Applied Biology**, v. 46, n. 1, p. 74-85, 1958a.

WALLACE, H. R. Movement of eelworms. II. A comparative study of the movement in soil of *Heterodera schachtii* Schmidt and of *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) Filipjev. **Annals of Applied Biology**, v. 46, n. 1, p. 86-94, 1958b.

WALLACE, H. R. Movement of eelworms. III. The relationship between eelworm length, activity and mobility. **Annals of Applied Biology**, v. 46, n. 4, p. 662-668, 1958c.

WALLACE, H. R. Movement of eelworms. VI. The influences of soil type, moisture gradient and host plant roots on the migration of the potato-root eelworm *Heterodera rostochiensis* Wollenweber. **Annals of Applied Biology**, v. 48, n. 1, p. 107-120, 1960.

WALLACE, H. R. Factors influencing the infectivity of plant parasitic nematodes. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 164, p. 592-614, 1966.

WALLACE, H. R. The dynamics of nematode movement. **Annual Review of Phytopathology**, v. 6, p. 91-114, 1968.

WALLACE, H. R. The influence of nematode numbers and of soil particle size, nutrients and temperature on the reproduction of *Meloidogyne javanica*. **Nematologica**, v. 15, n. 1, p. 55-64, 1969.

WALLACE, H. R. Abiotic influence in the soil environment. In: ZUCKERMAN, B. M.; MAI, W. F.; ROHDE, R. A. **Plant parasitic nematodes**. New York: Academic, 1971. p. 257-280.

WARMERDAM, S.; STERKEN, M. G.; van SCHAIK, C.; OORTWIJN, M. E. P.; SUKARTA, O. C. A.; LOZANO-TORRES, J. L.; DICKE, M.; HELDER, J.; KAMMENGA, J. E.; GOVERSE, A.; BAKKER, J.; SMANT, G. Genome-wide association mapping of the architecture of susceptibility to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in *Arabidopsis thaliana*. **New Phytologist**, v. 218, p. 724-737, 2018.

WASILEWSKA, L. The structure and function of soil nematode communities in natural ecosystems and agrocenoses. **Polish Ecological Studies**, Varsóvia, v. 5, n. 2, p. 97-145, 1979.

WESEMAEL, W. M. L.; VIAENE, N.; MOENS, M. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe. **Nematology**, v. 13, n. SI, p. 3-16, 2011.

WHARTON, D. A. Survival Strategies. In: GAUGLER, R.; BILGRAMI, A. L. (Eds.). **Nematode Behaviour**. Wallingford: CAB International, 2004. p. 389-412.

WINTER, S. M. J.; RAJCAN, I.; SHELP, B. J. Soybean cyst nematode: Challenges and opportunities. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 86, n. 1, p. 25-32, 2006.

WRIGHT, D. J. Nematicides: mode of action and new approaches to chemical control. In: ZUCKERMAN, B. M.; ROHDE, R. A. **Plant parasitic nematode**. v. 3. Nova Iorque: Academic Press, 1981. p. 421-449.

WUYTS, N.; SWENNEN, R.; de WAELE, D. Effects of plant phenylpropanoid pathway products and selected terpenoids and alkaloids on the behavior of the plant-parasitic nematodes *Radopholus similis*, *Pratylenchus penetrans* and *Meloidogyne incognita*. **Nematology**, v. 8, p. 89-101, 2006.

YEATES, G. W.; BONGERS, T.; de BOEGE, R. G. M.; FRECKMAN, D. W.; GEORGIEVA, S. S. Feedings habits in soil nematode families and genera – an outline for soil ecologists. **Journal of Nematology**, v. 25, n. 3, p. 315-331, 1993.

YOUNG, L. D. Epiphytology and life cycle. In: RIGGS, E. D.; WRATHER, J. A. (Eds.). **Biology and management of the soybean cyst nematode**. St. Paul: American Phytopathological Society, 1992. p. 27-36.

ZAKI, M. J.; KHAN, D.; ABID, M. Nematodes in the saline environment: A mini overview. **International Journal of Biology and Biotechnology**, v. 9, n. 1-2, p. 99-113, 2012.

ZHAO, X.; SCHMITT, M.; HAWES, C. M. Species-dependent effects of border cell and root tip exudates on nematodes behavior. **Phytopathology**, v. 90, n. 11, p. 1239-1245, 2000.

ZUCKERMANN, B. M. Gnotobiology. In: ZUCKERMANN, B. M.; MAI, W. F.; ROHDE, R. A. **Plant parasitic nematodes**. v. 2. Nova Iorque: Academic Press, 1971. p. 159-184.

**Vertical migration of second-stage juveniles of *Meloidogyne enterolobii*
as influenced by temperature and host stimuli**

CAPÍTULO II

Oliveira, Ana Karina dos Santos. Dr^a. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Fevereiro de 2019. Influência da planta hospedeira e temperatura na migração vertical de *Meloidogyne enterolobii* e *M. incognita* em colunas de solo. Dr^a. Elvira Maria Régis Pedrosa

Vertical migration of second-stage juveniles of *Meloidogyne enterolobii* as influenced by temperature and host stimuli

Abstract: Infective second-stage juveniles (J2s) migrate towards host roots in order to start the infection process. The host-finding ability is related to root exudation from hosts as well as soil attributes, such as temperature. *Meloidogyne enterolobii* is a highly aggressive emerging species but there is no information about its migration within the soil. The vertical migration of J2s of *M. enterolobii* was investigated in response to different temperatures and plant stimuli. Soil columns were constructed with three 4.4-cm-d x 4-cm-long PVC rings taped together to a single 2-cm long PVC inoculation ring, and then filled with sandy soil and kept at 1.2 g.cm⁻³ bulk density and 10% water content. Tomato or *Tagetes patula* seedlings were transplanted to Styrofoam cups, which were attached to the top of the columns; control treatments consisted of host-free cups. Freshly hatched J2s were injected into the inoculation ring and the columns placed into environmental chambers at 20 and 26 °C. Columns were completely randomized and replicated four times. The columns were disassembled 3, 6, 9 and 12 days after inoculation (DAI), and juveniles were extracted from each ring and cups separately, while root systems were stained to observe nematode penetration. Data were subjected to a repeated measures MANOVA and chi-square analysis to compare J2s distribution along the columns. In general, *M. enterolobii* migrate distances over 13 cm as soon as 3 days regardless of plant stimuli. Juveniles distribution along the columns was more uniform at 20 °C, while the vertical migration was greater at 26 °C, with over 60% of active J2s recovered from the cups at 12 DAI. Penetration was always greater under tomato, suggesting that *Tagetes patula* can delay nematode migration.

Key words: Guava root-knot nematode, mobility, soil columns, *Tagetes patula*

INTRODUCTION

The root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., are the most economically important plant-parasitic nematodes, presenting wide geographic distribution and a great range of host plants (Ferraz and Brown, 2016; Freitas et al., 2001). In infested areas, the root knot nematodes represent the main plant health obstacle for small farmer and may reduce the entire production of a field in months (Gomes et al., 2011), leading to losses of around US\$ 120 billion (Nicol et al., 2011).

Meloidogyne enterolobii (sin: *M. mayaguensis* Rammah & Hirschmann) is an emerging species that has been associated to several crops in Brazil and in the world. This species was primarily reported in Brazil parasitizing guava trees in Pernambuco and Bahia states (Carneiro et al., 2001). Rodríguez et al. (2007) highlight *M. enterolobii* importance by stating that it is one of the most dangerous species within the genus. Pereira et al. (2009) estimated ca. R\$ 112,7 million as a result of *M. enterolobii* parasitism in 2008. In five Brazilian states, economic losses were estimated to be over US\$ 61 million (Carneiro et al., 2011).

During their life cycle, the infective second-stage juveniles (J2s) of *Meloidogyne* spp. do not feed and move within the soil searching roots of suitable host plants (Bilgrami and Gaugler, 2004; ABAD et al., 2009), consuming energy reserves (lipids) stored in their intestine (Rocha et al., 2016). After penetrating the roots, J2s move through the cortex until finding an appropriate cell to establish the feeding site and initiate the parasitism (Elling, 2013; Warmerdam et al., 2018).

Soil attributes can significantly influence plant-parasitic nematodes migration and movement (Carrillo and Hallem, 2015; Gallardo et al., 2015; Hunt et al., 2001) since J2s are subjected to changes in soil conditions, which directly affects their survival (Wallace, 1968). Temperature is a dominant factor for egg hatching and movement of *Meloidogyne* spp. J2s (Curtis et al., 2009), but an optimum temperature range is specific for each one of their developmental stages (Ferraz and Monteiro, 2011).

Prot and van Gundy (1981a) observed greater migration of *M. incognita* at temperatures between 18 and 22 °C, while Wallace (1966) noted that *M. javanica* migration was greater at 25 °C, with 80% of J2s migrating towards deeper sections of sand-filled columns. The vertical migration of three populations of *Meloidogyne*, *M. hapla*, *M. chitwoodi* race 1 and *M. chitwoodi* race 2, was analyzed under 12, 18 and 24

°C. Juveniles of all three species were able to migrate better at 18 °C (Pinkerton et al., 1987).

In addition to temperature, J2s respond to root exudates released by host plants (Wang et al., 2018), by perceiving chemical compounds through sensory organs (Prot, 1980; Rasmann et al., 2012; Wallace, 1968). Distinct responses to the concentration of root exudates from the same plant have been reported, for example, high concentration of tomato (Diez and Dusenbery, 1989) and cucumber (Castro et al., 1989) exudates had caused repellency to *M. incognita* in agar-filled plates. Experiment in soil columns emphasize long distance migration of *Meloidogyne* spp. towards a host plant. Juveniles of *M. javanica* were able to migrate vertically 50 cm in 9 days and parasitize tomato roots (Prot, 1976), whereas juveniles of *M. chitwoodi* migrated 40 cm even in the absence of plant stimuli (Pinkerton et al., 1987). The attractiveness of a plant is related to its status as a host (Pudasaini et al., 2007), as reported for *M. incognita* and *M. graminicola* under tomato and rice, respectively (Dutta et al., 2011). In addition, studies indicated that nematodes use the shortest migration route to reach good host roots (Reynolds et al., 2011).

Despite *M. enterolobii* constraints to agriculture, very little information is available about the migratory behavior of the guava root-knot nematode. We hypothesized that the migration rate would be different under tomato, *Tagetes patula* and host-free conditions, and that higher temperatures would favor the migration. Therefore, this study aimed to investigate the vertical migration of *M. enterolobii* J2s in soil columns in response to different temperatures and plant stimuli.

MATERIAL AND METHODS

Nematode inoculum

Isolates of *M. enterolobii* were multiplied in tomato cv. Cobra (*Solanum lycopersicum*) by inoculating approximately 5,000 eggs planta⁻¹, in greenhouses at the University of Florida, Gainesville, USA. Sixty days after inoculation, plants were prepared for egg extraction.

After carefully removing the plants out of the pots, their root systems were double washed in clean water for debris removal. Washed roots were cut in pieces (2-5 cm) and then placed inside a metal blender with 0.52% sodium hypochlorite (NaOCl) solution. Roots were blended for 20 s and the suspension was poured onto a series of sieves in the

following order: 200 mesh and 500 mesh. The material was washed thoroughly to remove NaOCl excess (Hussey and Barker, 1973). Then, the suspension from the 500 mesh was poured on modified Baermann funnels at 27 °C in 2-ply “Kleenex” tissue paper (Rodríguez-Kábana and Pope, 1981). After discarding the J2s from the first 24h, juveniles were collected every 24h for 4 days and kept under refrigeration until the beginning of the experiment.

Seedling of tomato and *Tagetes patula*

Seeds of tomato and *T. patula* (variety “Petite”) were sown onto vermiculite in plastic seedling trays, one seed per cell, and soon after placed in greenhouse to allow germination. Four-week-old seedlings were used to study the effect of plant stimulus on nematode migration.

Experimental apparatus

The migration of *M. enterolobii* J2s was evaluated in polyvinyl chloride (PVC) soil columns (Fig. 1) based on the specifications by Pinkerton et al. (1987). The columns consisted of a Styrofoam cup attached to three 4-cm long rings and one 2-cm long ring (inoculation ring) both with 4.4 cm internal diameter, overlapping each other and taped to one another, representing 5 sections with total volume of 213 cm³. Each column was filled with heat-sterilized Candler soil (96% sand, 2% silt and 2% clay) collected from a peanut field in Levy County, FL, at 1.2 Kg dm⁻³ bulk density, which was similar to field conditions (Table1).

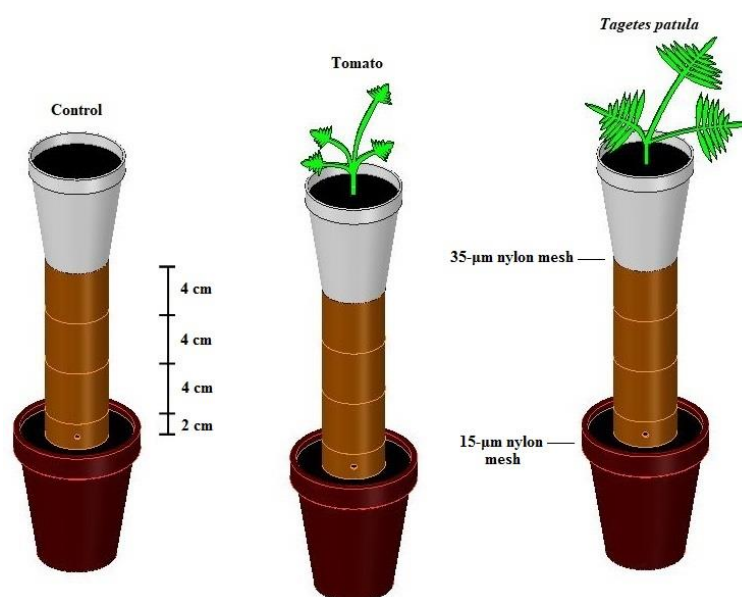


Figure 1. PVC columns sketch used in the experiment. Nematodes were injected into the inoculation point, located 1 cm above the lower end of the columns.

Table 1. Chemical attributes characterization of the soil used to fill the columns.

Chemical attributes	Unit	Depth (m)
		0.00-0.40
pH	(1:2.5)	5.6
Extractable P	mg Kg ⁻¹	>135
Extractable K	mg Kg ⁻¹	13
Extractable Mg	mg Kg ⁻¹	0
Extractable Ca	mg Kg ⁻¹	164
Organic Matter	%	0.27

P: Phosphorus; K: Potassium; Mg: Magnesium; Ca: Calcium

Bottomless Styrofoam cups with 300 g of soil and either one tomato or *T. patula* plant, or no plant (control) were attached to the upper end of each column. To avoid roots from growing into the system, a 35- μ m nylon mesh was taped between the cups and the columns (Prot, 1976), whereas a 15- μ m nylon mesh (smaller than J2s body diameter) was attached to the base of the columns to prevent J2s getting out of the apparatus (Pudasaini et al., 2007). When the apparatuses were assembled, they were transferred to environmental chambers, where half of the columns were kept at 20 °C and the other half at 26 °C, with 16h light/8h dark photoperiod. An experimental design of completely randomized blocks with four replicates was used.

Soil water content was maintained at 10% by weight throughout the experiment by replacing the amount of water lost by evapotranspiration through daily top irrigation. To mitigate the effect of temperature oscillations while watering the columns, water bottles were kept inside each environmental chamber.

Approximately 1 ml of nematode suspension containing $1,000 \pm 100$ J2s of *M. enterolobii* was injected 1 cm above the lower end of the columns. Columns were dismantled at 3, 6, 9 and 12 days after inoculation (DAI), following all the 5 sections. and J2s were extracted through centrifugal-flotation technique (Jenkins, 1964). Recovered nematodes were counted under stereomicroscope at 100 \times magnification to determine the distribution patterns and the J2s amount in each section. Juveniles were grouped as recovered (total number of nematodes) and active (juveniles that showed some movement regardless of its intensity). During the columns dismantling, roots of tomato and *T. patula* were washed and separated for fuchsin acid staining (Byrd et al., 1983) to count J2s inside roots. Additionally, fresh root and shoot weight were measured, by cutting the stems around 2 cm above the roots.

Statistical analysis

Nematode data were $\sqrt{x+0.5}$ -transformed before statistical analyses to homogenize variances. Repeated measure MANOVA was used to test the effects of temperature, stimuli and time on the migration of J2s of *M. enterolobii*. A chi-square test was further performed on significant results to compare J2s distribution within the columns and LSD mean comparison test was used for J2s inside roots. All the analyses were performed on RStudio (RStudio Team, 2015).

RESULTS AND DISCUSSION

By the end of the experiment, no juvenile of *M. enterolobii* was found on the PVC ring walls and trapped into the mesh. There was a significant influence of temperature on recovered J2s ($P < 0.0001$), and there was significant interaction between stimulus and section ($P < 0.05$) and time and section ($P < 0.0001$, Table 2). The migration of active J2s along the column was significantly influenced by the effects of each factor separately ($P < 0.01$), but there was significant interaction among time, temperature and section ($P < 0.05$, Table 2). Nematode migration is defined as a coordinated movement of J2s towards host roots due to a gradient of root exudates (Bilgrami and Gaugler, 2004; Robinson and Perry, 2006), however the literature on the behavior of juveniles of *M. enterolobii* within the soil is scarce, especially in soil column migration assays.

Table 2. Repeated measure MANOVA summary of the effects of Temperature, Plant Stimulus, Section and Time on second-stage juveniles (J2s) of *Meloidogyne enterolobii* vertical migration in PVC columns filled with sandy soil.

Source	df	Recovered J2s				Active J2s			
		SS	MS	F	p-value	SS	MS	F	p-value
Block	3	16.00	5.50	1.04	0.3755	86.91	28.97	8.37	<0.0001
Temperature (Temp)	1	129.20	129.20	24.62	<0.0001	194.18	194.18	56.13	<0.0001
Stimulus (Stim)	2	78.40	39.20	7.47	0.0007	47.94	23.97	6.93	0.0011
Section (Sec)	4	3884.40	971.10	184.97	<0.0001	628.20	157.05	45.40	<0.0001
Temp*Stim	2	10.80	5.40	1.02	0.3603	1.30	0.65	0.19	0.8276
Temp*Sec	4	4.40	1.10	0.20	0.9380	8.60	2.15	0.62	0.6469
Stim*Sec	8	96.00	12.00	2.29	0.0210	41.12	5.14	1.48	0.1614
Temp*Stim*Sec	8	78.40	9.80	1.86	0.0653	35.44	4.43	1.28	0.2526
Time	3	142.20	47.40	9.03	<0.0001	146.28	48.76	14.09	<0.0001
Time*Temp	3	3.00	1.00	0.19	0.9065	16.98	5.66	1.64	0.1805
Time*Stim	6	45.00	7.50	1.43	0.2021	15.00	2.50	0.72	0.6322
Time*Sec	12	730.80	60.90	11.60	<0.0001	493.68	41.14	11.89	<0.0001
Time*Temp*Stim	6	22.80	3.80	0.71	0.6383	15.72	2.62	0.76	0.6034

Time*Temp*Sec	12	55.20	4.60	0.88	0.5640	82.20	6.85	2.01	0.0228
Time*Stim*Sec	24	193.00	8.04	1.53	0.0547	106.80	4.45	1.29	0.1682
Time*Temp*Stim*Sec	24	64.80	2.70	0.52	0.9711	44.64	1.86	0.54	0.9652

df: degree of freedom; SS: Sum of squares; MS: Mean square.

Regardless of plant stimulus, more than 50% of recovered J2s were found at the inoculation ring (Fig. 2A). A migration tendency was observed along the columns; however, at distances greater than 13 cm, an increase on recovery rates was observed for control and *Tagetes patula* columns, with similar percentages around 20%, whereas under tomato only 9% of *M. enterolobii* were recovered (Fig. 2A), which might suggest that more juveniles were able to penetrate tomato roots. The high percentage of *M. enterolobii* at the top of the columns might be a result of J2s random movement in search of feeding sites (Curtis, 2008) in addition to restricted lateral movement due to the volume limitation imposed by the PVC rings (Spence et al., 2008).

Although most of recovered J2s remained in the inoculation ring, there was a decrease on the percentage of J2s over time. Other researchers working with migration studies have noticed that the majority of injected juveniles remained at or close to the inoculation ring in the short term (Nježić et al., 2014; Pudasaini et al., 2007; Prot and van Gundy, 1981b), which is similar to our results. At 3 DAI almost 70% were extracted from the inoculation ring, however 44% were observed at 12 DAI (Fig. 2B). Contrarily, there was an increase on the percentage of J2s that were able to migrate more than 13 cm over time, where 4%, 11%, 30% and 40% were observed at 3, 6, 9 and 12 DAI, respectively (Fig. 2B).

The presence of J2s at the top of the column at 3 DAI indicate that the texture of the Candler soil did not hinder nematode migration, which is directly related to soil pore space (Wallace 1958a, b). Nematodes can only migrate through pores wider than their body diameter (Wallace, 1968), thus sandy soils might improve J2s migration because they have bigger pores (Rinaldi et al., 2014). Actually, J2s did not migrate in a soil with more than 30% of clay (van Gundy, 1985).

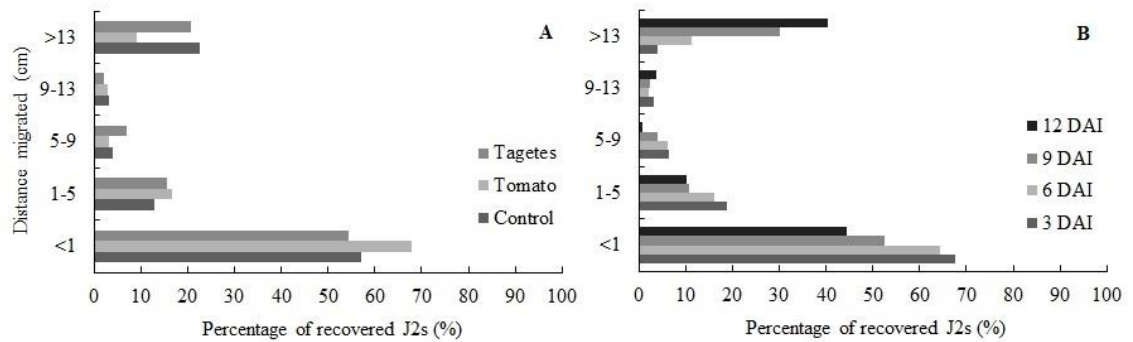


Figure 2. Distribution of recovered second-stage juveniles (J2s) of *Meloidogyne enterolobii* along sections (4-cm long, 4.4-cm internal diameter) of PVC soil columns under different plant stimuli (A) and over time (B) at 3, 6, 9 and 12 days after inoculation (DAI). Bars were statistically different according to X^2 test ($P < 0.01$).

The main approach for plant-parasitic nematodes to recognize plant hosts is chemotaxis (Reynolds et al., 2011), through which they are able to migrate in relation to attractive root exudates. Right after hatching, J2s must migrate within the soil towards host plants (Ferraz and Brown, 2016). During their trajectory, they do not feed (Wallace, 1966) and consume lipid reserves from their own bodies (Das et al., 2011), therefore the residence time in the soil is crucial for the viability and, consequently, infection potential of J2s (Rocha et al., 2010, 2016). In fact, Reynolds et al. (2011) verified that nematodes tend to choose the shortest route to reach a good host plant, remaining less time in the soil.

In our experiment, the lowest percentage of active J2s recovered from the soil was in tomato (11%), while there was no difference on the recovery in control and *T. patula* (Fig. 3), suggesting that nematodes were able to migrate over 13 cm and, consequently, penetrated tomato roots between 3 and 12 days. The presence of the stimulus from a good host was also able to positively affect the vertical and horizontal migration of *M. javanica* (Prot, 1976) and *M. incognita* (Dalzell et al., 2011). On the other hand, vertical migration of *M. chitwoodi* occurred regardless of the presence of tomato plants in sand-loam-filled columns (Pinkerton et al., 1987). Reasonable explanations for the different results are the random movement of *Meloidogyne* spp. in search of feeding sites (Feltham et al., 2002) or internal characteristics of the different species of nematodes, since *M. enterolobii* is considered highly aggressive (Rashidifard et al., 2018).

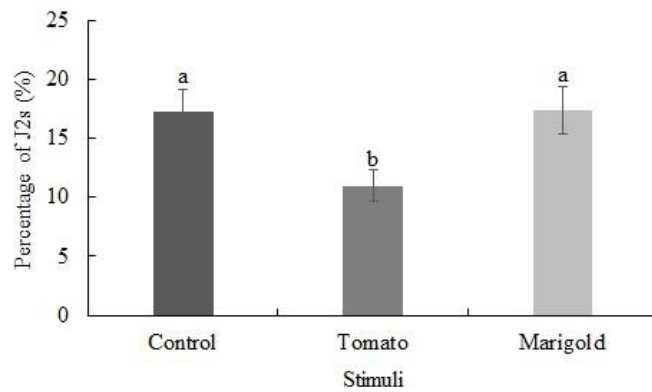


Figure 3. Recovery rate of active second-stage juveniles (J2s) of *Meloidogyne enterolobii* from soil columns under different plant stimuli.

At 3 DAI, irrespectively of temperature, the greater percentage of active J2s were found at the inoculation ring (Fig. 4); similar recovery rates were observed for *Pratylenchus coffeae* and *M. incognita* (Francilino et al., 2017; Fujimoto et al., 2010). Nonetheless, some nematodes migrated 13 cm in the same period, behavior even more evident at 26 °C, where around 9% of active J2s was recovered near the rhizosphere of the crops. At 20 °C, active J2s percentage decreased with time in the inoculation ring, from 44% to 22% at 3 and 12 DAI, respectively; however, in the last section, there was increase of active J2s over time at both temperatures (Fig. 4). The greater migration rate at 26 °C in the first few days may be attributed to thermophilic trait of *M. enterolobii* (Karssen et al., 2013), unlikely *M. hapla* and *M. chitwoodi*, cryophils that show faster migrations at 18 °C than at 24 °C (Pinkerton et al., 1987), and *P. penetrans* at 21 °C (Pudasaini et al., 2007), ideal temperature for such migratory nematode species (Kipimski and Willis, 1981).

Active J2s between the second and fourth sections (1-13 cm) have shown different distribution in relation to the temperature. At 20 °C, the juveniles were more evenly distributed over time; while at 26 °C the number of active J2s recovered from 5-9 and 9-13 cm distances decreased. This behavior might suggest a rapid movement of the juveniles towards the last section, which contained the roots (Fig. 4). These results might be explained by two high temperature related factors: i) an increase on the metabolism of *Meloidogyne* spp. J2s, since they are poikilothermic organisms (Pudasaini et al., 2007), and ii) promotion of root exudation due to changes on the cell membrane permeability and diffusion processes of the exudates (Neumann and Römheld, 2001).

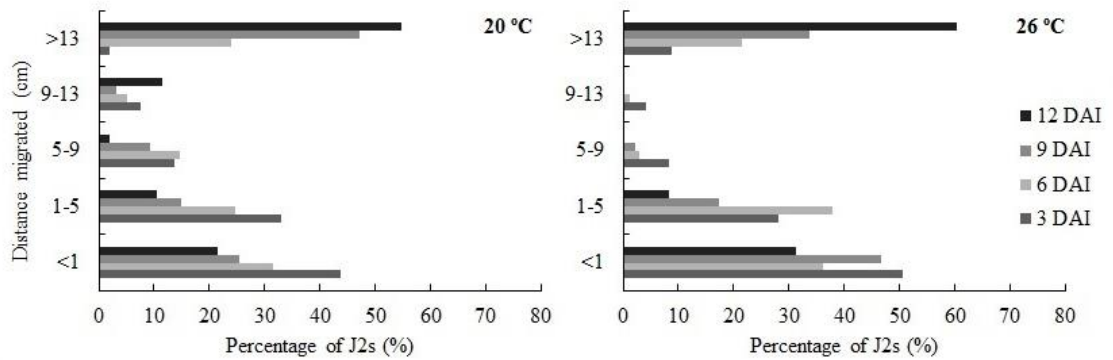


Figure 4. Distribution of active second-stage juveniles (J2s) of *Meloidogyne enterolobii* in PVC soil columns (sections of 4-cm long, 4.4-cm internal diameter) under different Temperatures and distance migrated (cm) at 3, 6, 9 and 12 days after inoculation (DAI). Distribution figures were statistically different according to X^2 test ($P < 0.01$).

Juveniles of *M. enterolobii* inside roots after migrating through the column were significantly influenced by stimulus and time (Table 3). The number of J2s that were able to penetrate roots was always higher under tomato throughout the experiment, which is reasonable since tomato is a universal host for *Meloidogyne* spp. (Seid et al., 2015). Even though nematodes migrated over 13 cm (Fig. 4), at 3 DAI J2s were only inside tomato roots (Fig. 5). A sharp increase of J2s inside tomato roots was observed early during the experiment, from 3 to 17 J2s per root system at 3 and 6 DAI, respectively. Prot (1976) reported a much higher number of J2s of *M. javanica* inside tomato roots, ca. 200 and 150 J2s, in 25 and 50 cm columns, respectively, at 9 DAI. Results might have been different due to the dimensions of the experimental apparatus. The other author used 1.2-cm wide columns, while columns with 4.4 cm internal diameter were used in the present study. Columns with smaller diameters may not reflect field conditions, since the vertical migration of nematodes is favored due to the small internal volume of the column and lateral displacement of juveniles is limited (Spence et al., 2008).

Shoot and root weight were significantly influenced by time (data not shown). Plant growth data suggest that the experimental period was not sufficient to cause damages to the plants due to *M. enterolobii* infection, except for root weight at 26 °C, which was nearly the same over time, and even lower when compared to 20 °C at 12 DAI. This behavior might be due to the greater migration of J2s at 26 °C (Fig. 4).

Table 3. Repeated measure MANOVA summary of second-stage juveniles (J2s) of *Meloidogyne enterolobii* inside roots after migrating through sandy soil-filled PVC columns.

Source	J2s inside roots				
	df	SS	MS	F	p-value
Block	3	0.30	0.10	0.10	0.9591
Temperature (Temp)	1	0.51	0.51	0.51	0.4769
Stimulus (Stim)	1	39.42	39.42	39.44	<0.0001
Temp*Stim	1	0.35	0.35	0.35	0.5578
Time	3	47.37	15.79	15.80	<0.0001
Time*Temp	3	1.05	0.35	0.35	0.7880
Time*Stim	3	12.45	4.15	4.16	0.0111
Time*Temp*Stim	3	0.39	0.13	0.13	0.9390

df: degree of freedom; SS: Sum of squares; MS: Mean square.

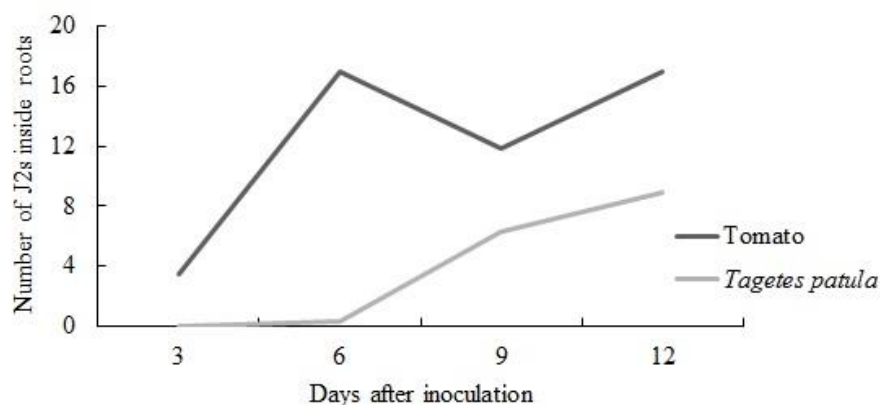


Figure 5. Penetration of second-stage juveniles (J2s) of *Meloidogyne enterolobii* into Tomato and *Tagetes patula* roots over time.

There was no penetration of *M. enterolobii* in *T. patula* at 3 DAI, and the number of J2s able to parasitize the roots was significantly higher at 12 DAI, with 9 J2s per root system (Fig. 5). The presence of J2s inside *T. patula* roots at 9 and 12 DAI may indicate that it is a less attractive stimulus to *M. enterolobii*. Rich et al. (2009) compiled information on the parasitism of different species of *Meloidogyne* in several weed plants and did not observe *M. enterolobii* parasitizing species from the family Asteraceae, from which *Tagetes* spp. belongs to, thus reinforcing our assumption. Evaluating the host status of *Tagetes patula* was not the objective of the present study; therefore future studies with different *Tagetes* spp. must be performed to confirm such theory.

To our knowledge, there is no literature on vertical or horizontal migration studies towards host plants, nor about *Tagetes* spp. host status for *M. enterolobii*. *Tagetes* spp. has been widely studied for the suppression of plant-parasitic nematodes, especially

Meloidogyne (Kalaiselvam and Devaraj, 2011) and there are records that it is resistant to *M. incognita* (Buena et al., 2008), however, there is no data about *M. enterolobii*. Extracts from parts of *Tagetes* spp. are used to control root-knot nematodes because of repellent properties (Wang et al., 2018) and mobility decrease of infective juveniles, such as *M. incognita*, *M. javanica* and *M. paranaensis* (Munhoz et al., 2017). Marahatta et al. (2012) states that the suppressive effect is more evident under roots in full active development. The results from our experiment indicate that *Tagetes patula* may be used to control *M. enterolobii* since juveniles take longer to penetrate its roots.

CONCLUSIONS

Meloidogyne enterolobii is able to migrate long distances (> 13 cm) as early as 3 DAI.

The temperature influences the vertical migration of *M. enterolobii*, with faster rates at 26 °C.

Juveniles' root penetration is always greater under tomato, and the presence of *T. patula* plants delay the migration and penetration of *M. enterolobii*.

LITERATURE CITED

ABAD, P.; CASTAGNONE-SERENO, P.; ENGLER, J. A.; FAVERY, B. Invasion, feeding and development. In: PERRY, R.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds). **Root-knot nematodes**. Cambridge: CAB International, 2009. p. 163-181.

BILGRAMI, A. L.; GAUGLER, R. Feeding behavior. In: GAUGLER, R.; BILGRAMI, A. L. (Eds.). **Nematode behaviour**. Wallingford: CAB International, 2004. p. 63-90.

BUENA, A. P.; DÍEZ-ROJO, M. A.; LÓPEZ-PÉREZ, J. A.; ROBERTSON, L.; ESCUER, M.; BELLO, A. Screening of *Tagetes patula* L. on different populations of *Meloidogyne*. **Crop Protection**, v. 27, p. 96-100, 2008.

BYRD, D. W. JR; KIRKPATRICK, T.; BARKER, K. R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, v. 15, n. 1, p. 142-143, 1983.

CARNEIRO, R. M. D. G.; MOREIRA, W. A.; ALMEIDA, M. R. A.; GOMES, A. C. M. M. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 223-228, 2001.

CARNEIRO, R. M. D. G.; HIDALGO-DÍAZ, L.; MARTINS, I.; SILVA, K. F. A. S.; SOUSA, M. G.; TIGANO, M. S. Effect of nematophagous fungi on reproduction of *Meloidogyne enterolobii* on guava (*Psidium guajava*) plants. **Nematology**, Flórida, v. 13, n. 6, p. 721-728, 2011.

CARRILLO, M. A.; HALLEM, E. A. Gas sensing in nematodes. **Molecular Neurobiology**, v. 51, p. 919-931, 2015.

CASTRO, C. E.; BELSER, N. O.; MCKINNEY, H. E.; THOMASON, I. J. Strong repellency of the root knot nematode, *Meloidogyne incognita*, by specific inorganic ions. **Journal of Chemical Ecology**, v. 16, n. 4, p. 1199-1205, 1989.

CURTIS, R. H. C. Plant-nematode interactions: Environmental signals detected by the nematode's chemosensory organs control changes in the surface cuticle and behaviour. **Parasite**, v. 15, p. 310-316, 2008.

CURTIS, R. H. C.; ROBINSON, A. F.; PERRY, R. N. Hatch and host location. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds.). **Root-knot Nematodes**. Wallingford: CAB International, 2009. p. 139-162.

DALZELL, J. J.; KERR, R.; CORBETT, M. D.; FLEMING, C. C.; MAULE, A. G. Novel bioassays to examine the host-finding ability of plant-parasitic nematodes. **Nematology**, v. 13, n. 2, p. 211-220, 2011.

DAS, S.; WESEMAEL, W. M. L.; PERRY, R. N. Effect of temperature and time on the survival and energy reserves of juveniles of *Meloidogyne* spp. **Agricultural Science Research**, v. 1, n. 5, p. 102-112, 2011.

DIEZ, J. A.; DUSENBERY, D. B. Repellent of root-knot nematodes from exudate of host roots. **Journal of Chemical Ecology**, v. 15, n. 10, p. 2445-2455, 1989.

DUTTA, T. K.; POWERS, S. J.; KERRY, B. R.; GAUR, H. S.; CURTIS, R. H. C. Comparison of host recognition, invasion, development and reproduction of *Meloidogyne graminicola* and *M. incognita* on rice and tomato. **Nematology**, v. 13, n. 5, p. 509-520, 2011.

ELLING, A. A. Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. **Phytopathology**, v. 103, n. 11, p. 1092-1102, 2013.

FELTHAM, D. L.; CHAPLAIN, M. A. J.; YOUNG, I. M.; CRAWFORD, J. W. A mathematical analysis of a minimal model of nematode migration in soil. **Journal of Biological Systems**, v. 10, n. 1, p. 15-32, 2002.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Editora, 2016. 251p.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: AMORIM, L.; KIMATI, H.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: Princípios e conceitos**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011, p. 168-199.

FRANCILINO, A. H.; PEDROSA, E. M. R.; SILVA, E. F. F.; ROLIM, M. M.; CARDOSO, M. S. O.; MARANHÃO, S. R. V. L. Efeito do fluxo de água, isca vegetal e volume de poros do solo na mobilidade de *Pratylenchus coffeae*. **Nematropica**, v. 47, n. 1, p. 63-73, 2017.

FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução à nematologia**. Viçosa: UFV, 2001. 84p.

FUJIMOTO, T.; HASEGAWA, S.; OTOBE, K.; MIZUKUBO, T. The effect of soil water flow and soil properties on the motility of second-stage juveniles of the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, p. 1065-1072, 2010.

GALLARDO, J. Á. M.; VALDÉS, T. D.; RUVALCABA, L. P.; MOLAR, R. A.; TORRES, J. V.; FASIO, J. A. C. Nematodos fitoparasitos y su relación com factores edáficos de papaya em Colima, México. **Revista Mexicana de Ciências Agrícolas**, v. 6, n. 1, p. 251-257, 2015.

GOMES, V. M.; SOUZA, R. M.; MUSSI-DIAS, V.; SILVEIRA, S. F.; DOLINSKI, C. Guava decline: A complex disease involving *Meloidogyne mayaguensis* and *Fusarium solani*. **Journal of Phytopathology**, Malden, v. 159, n. 1, p. 45-50, 2011.

HUNT, H. W.; WALL, D. H.; DeCRAPPEO, N. M.; BRENNER, J. A model for nematode locomotion in soil. **Nematology**, v. 3, n. 7, p. 705-716, 2001.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods colleting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v. 57, p. 1025-1028, 1973.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v. 48, n. 9, p. 692, 1964.

KALAISELVAM, I. DEVARAJ, A. Effect of root exudates of *Tagetes* sp. on egg hatching behavior of *Meloidogyne incognita*. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 2, n. 10, p. 93-96, 2011.

KARSSEN, G.; WESEMAEL, W.; MOENS, M. Root-knot nematodes. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. (Eds.). **Plant Nematology**. 2 ed. Wallingford: CAB International, 2013. p. 73-108.

KIMPINSKI, J.; WILLIS, C. B. Influence of soil temperature and pH on *Pratylenchus penetrans* and *P. crenatus* in alfalfa and timothy. **Journal of Nematology**, v 13, n. 3, p. 333-338, 1981.

MARAHATTA, S. P.; WANG, K.; SIPES, B. S.; HOOKS, C. R. R. Effects of *Tagetes patula* on active and inactive stages of root-knot nematodes. **Journal of Nematology**, v. 44, n. 1, p. 26-30, 2012.

MUNHOZ, V. M.; BAIDA, F. C.; LOPES, G. C.; SANTIAGO, D. C.; SOUZA, J. R. P.; MELLO, J. C. P. Extract and semi-purified fractions of *Tagetes patula* flowers in the control of root-knot nematodes. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 6, p. 3529-3538, 2017.

NEUMANN, G.; RÖMHELD, V. The release of root exudates as affected by plant's physiological status. In: PINTON, R.; VARANINI, Z.; NANNIPIERI, P. (Eds.). **The**

Rhizosphere: Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface. Nova Iorque: Marcel Dekker, 2001. p. 41-93.

NICOL, J. M.; TURNER, S. J.; COYNE, D. L.; NIJS, L.; HOCKLAND, S.; MAAFI, T. Z. Current nematode threats to world agriculture. In: JONES, J.; GHEYSEN, G.; FENOLL, C. (Eds.) **Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions.** Dordrecht: Springer, 2011. p. 21-43.

NJEŽIĆ, B.; SUTTER, N.; MOENS, M. Interaction of *Tagetes patula* cv. Single Gold with the life cycle of the plant-parasitic nematodes *Meloidogyne chitwoodi* and *Pratylenchus penetrans*. **Russian Journal of Nematology**, v. 22, n. 2, p. 101-108, 2014

PEREIRA, F. M.; SOUZA, R. M.; SOUZA, P. M.; DOLINSKI, C.; SANTOS, G. K. Estimativa do impacto econômico e social direto de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, n.2, p. 176–181, 2009.

PINKERTON, J. N.; MOJTAHEDI, H.; SANTO, G. S.; O'BANNON, J. H. Vertical migration of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. hapla* under controlled temperature. **Journal of Nematology**, v. 19, n. 2, p. 152-157, 1987.

PROT, J. Amplitude et cinétique des migrations du nématode *Meloidogyne javanica* sous l'influence d'un plant de tomate. **Cahiers – ORSTOM. Série biologie**, v. 6, n. 3, p. 157-166, 1976.

PROT, J. Migration of plant-parasitic nematodes towards plant roots. **Revue de Nématologie**, v. 3, n. 2, p. 305-318, 1980.

PROT, J.; van GUNDY, S. D. Influence of photoperiod and temperature on migration of *Meloidogyne* juveniles. **Journal of Nematology**, v. 13, n. 2, p. 217-220, 1981a.

PROT, J.; van GUNDY, S. D. Effect of soil texture and the clay component on migration of *Meloidogyne incognita* second-stage juveniles. **Journal of Nematology**, v. 13, n. 2, p. 213-217, 1981b.

PUDASAINI, M. P.; VIAENE, N.; MOENS, M. The influence of host and temperature on the vertical migration of *Pratylenchus penetrans*. **Nematology**, v. 9, n. 3, p. 437-447, 2007.

RASHIDIFARD, M.; FOURIE, H.; VÉRONNEAU, P.; MARAIS, M.; DANEEL, M. S.; MIMÉE, B. Genetic diversity and phylogeny of South African *Meloidogyne* populations using genotyping by sequencing. **Scientific Reports**, v. 8, p. 13816, 2018.

RASMANN, S.; ALI, J. G.; HELDER, J.; van der PUTTEN, W. H. Ecology and evolution of soil nematode chemotaxis. **Journal of Chemical Ecology**, v. 38, p. 615-628, 2012.

REYNOLDS, A. M.; DUTTA, T. K.; CURTIS, R. H. C.; POWERS, S. J.; GAUR, H. S.; KERRY, B. R. Chemotaxis can take plant-parasitic nematodes to the source of a chemo-attractant via the shortest possible routes. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 8, n. 57, p. 568-577, 2011.

RICH, J. R.; BRITO, J. A.; KAUR, R.; FERRELL, J. A. Weed species as hosts of *Meloidogyne*: A review. **Nematropica**, v. 39, n. 2, p. 157-185, 2009.

RINALDI, L. K.; NUNES, J.; MONTECELLI, T. D. N. Efeito de texturas do solo sobre populações de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* em soja. **Cultivando o Saber**, v. 7, n. 1, p. 83-101, 2014.

ROBINSON; A. F.; PERRY, R. N. Behaviour and sensory perception. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. (Eds.). **Plant Nematology**. Wallingford: CAB International, 2006. p. 210-233.

ROCHA, F. S.; CAMPOS, V. P.; SOUZA, J. T. Variation in lipid reserves of second-stage juveniles of *Meloidogyne exigua* in a coffee field and its relationship with infectivity. **Nematology**, v. 12, n. 3, p. 365-371, 2010.

ROCHA, F. S.; CAMPOS, V. P.; FERNANDES, M. F. G.; MUNIZ, M. F. S. Migration and reproduction of *Meloidogyne incognita* in two soil textures. **Nematropica**, v. 46, n. 2, p. 162-171, 2016.

RODRÍGUEZ, M.G.; GÓMEZ, L.; PETEIRA, B. *Meloidogyne mayaguensis* Rammah y Hirschmann, plaga emergente para la agricultura tropical y subtropical. **Revista Protección Vegetal**, v. 22, p. 183-196, 2007.

RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; POPE, M. H. A simple incubation method for the extraction of nematodes from soil. **Nematropica**, v. 11, n. 2, p. 175-186, 1981.

RStudio Team (2015). **RStudio**: Integrated Development for R. Boston, MA: RStudio, Inc. Available at: <http://www.rstudio.com/>

SEID, A.; FININSA, C.; MEKETE, T.; DECRAEMER, W.; WESEMAEL, W. M. L. Tomato (*Solanum lycopersicum*) and root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) – a century-old battle. **Nematology**, v. 17, n. 9, p. 995-1009, 2015.

SPENCE, K. O.; LEWIS, E. E.; PERRY, R. N. Host-finding and invasion by entomopathogenic and plant-parasitic nematodes: Evaluating the ability of laboratory bioassays to predict field results. **Journal of Nematology**, v. 40, n. 2, p. 95-98, 2008.

van GUNDY, S. D. Ecology of *Meloidogyne* spp. - emphases on environmental factors affecting survival and pathogenicity. In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. **An advanced treatise on Meloidogyne**. v. 1. Raleigh: North Carolina University Graphics, 1985. p. 177-182.

WALLACE, H. R. Movement of eelworms. I. The influence of pore size and moisture content of the soil on the migration of larvae of the beet eelworm, *Heterodera schachtii* Schmidt. **Annals of Applied Biology**, v. 46, n. 1, p. 74-85, 1958a.

WALLACE, H. R. Movement of eelworms. II. A comparative study of the movement in soil of *Heterodera schachtii* Schimdt and of *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) Filipjev. **Annals of Applied Biology**, v. 46, n. 1, p. 86-94, 1958b.

WALLACE, H. R. Factors influencing the infectivity of plant parasitic nematodes. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 164, p. 592-614, 1966.

WALLACE, H. R. The dynamics of nematode movement. **Annual Review of Phytopathology**, v. 6, p. 91-114, 1968.

WANG, C.; MASLER, E. P.; ROGERS, S. T. Response of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita* infective juveniles to root tissues, root exudates, and root extracts from three plant species. **Plant Disease**, v. 102, n. 9, p. 1733-1740, 2018.

WARMERDAM, S.; STERKEN, M. G.; van SCHAIK, C.; OORTWIJN, M. E. P.; SUKARTA, O. C. A.; LOZANO-TORRES, J. L.; DICKE, M.; HELDER, J.; KAMMENGA, J. E.; GOVERSE, A.; BAKKER, J.; SMANT, G. Genome-wide association mapping of the architecture of susceptibility to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in *Arabidopsis thaliana*. **New Phytologist**, v. 218, p. 724-737, 2018.

**Comparison of migration and penetration of *Meloidogyne enterolobii*
and *M. incognita* in soil columns with tomato and marigold**

CAPÍTULO III

Oliveira, Ana Karina dos Santos. Dr^a. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Fevereiro de 2019. Influência da planta hospedeira e temperatura na migração vertical de *Meloidogyne enterolobii* e *M. incognita* em colunas de solo. Dr^a. Elvira Maria Régis Pedrosa

Comparison of migration and penetration of *Meloidogyne enterolobii* and *M. incognita* in soil columns with tomato and marigold

Abstract: Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) can parasitize and reduce yields of nearly all agricultural crops. Although migration studies have focused on the model species, *M. incognita*, there is little or no information about *M. enterolobii*, an emerging species that have been a major threat for guava in Brazil. The aim of this study was to evaluate the vertical migration of second-stage juveniles (J2s) of *M. enterolobii* and *M. incognita* under distinct plant stimuli. Soil columns were constructed by taping together three 4.4-cm-d x 4-cm-long PVC rings to one 2-cm long PVC inoculation ring. Each column was filled with sandy soil and kept at 1.2 g.cm⁻³ bulk density with 10% water content. Styrofoam cups were attached to the columns containing a 4-week-old tomato or *Tagetes patula* seedling; host-free cups were used as control. The columns with tomato, *T. patula* and host-free were completely randomized and around 1,000 freshly hatched J2s were injected into inoculation ring. The columns were kept at growth chambers at 20 °C and disassembled at 3, 6, and 9 days after inoculation (DAI). The experiment was repeated four times. Juveniles were extracted separately following each ring and cup and tomato and *T. patula* roots stained to evaluate nematode penetration. Data were analyzed through a repeated measures MANOVA and chi-square test to compare J2s distribution within the columns. The migrations under tomato and *T. patula* stimuli was comparable to those at host-free conditions. Although both species were able to migrate long distances, *M. enterolobii* was more mobile than *M. incognita*. Juveniles of *M. enterolobii* were able to parasitize tomato roots as early as 3 DAI. In general, *T. patula* delayed nematodes migration in the soil.

Key words: host attraction, nematode mobility, root-knot nematodes, *Solanum lycopersicum*, *Tagetes patula*

INTRODUCTION

Hundreds of millions of dollars are lost around the world through damages caused by plant-parasitic nematodes (Kohli et al., 2018; Nicol et al., 2011). Most of them are due to the yield reductions on several economically important crops by the root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. (Fujimoto et al., 2010). Although more than 100 species of *Meloidogyne* spp. have been described up to this date (Moreira et al., 2018), studies have been focused in the four major ones, *M. incognita*, *M. hapla*, *M. javanica* and *M. arenaria* (Moens et al., 2009). Therefore, there is an immediate need for further management of some of the minor species.

Meloidogyne enterolobii is the major threat for the guava (*Psidium guajava*) production in tropical countries (Elling, 2013). The severe aggressiveness and high reproduction rate of the nematode and the lack of chemicals allowed to the crop limit *M. enterolobii* management, leading to complete orchards wipe out in months (Carneiro et al., 2011; Gomes et al., 2011). Additionally, *M. enterolobii* is capable of overcoming resistance genes (i.e. *Mi-1*) in different crops (Correia et al., 2015; Guimarães et al., 2003; Kiewnick et al., 2009; Westerich et al., 2011), which makes them a highly aggressive species (Rashidifard et al., 2018).

Chemical control was the primary method to manage plant-parasitic nematodes (Oka et al., 2012; Korthals et al., 2014; Oka, 2010). However, with continuous withdrawal of nematicides from the market (Jiang et al., 2018), alternative methods for integrated pest management may help control *Meloidogyne* spp. (Khalil et al., 2012; Ntalli and Caboni, 2012), such as the use of antagonist, trap or non-host crops (Buena et al., 2008; Moreira et al., 2015; Pudasaini et al., 2007). *Tagetes* spp. plants have been tested for such use (Marahatta et al., 2012) by exposing J2s or eggs to extracts from different parts of the plant (Kalaiselvam and Devaraj, 2011; Marahatta et al., 2012; Munhoz et al., 2017; Ploeg, 1999; Wang et al., 2018). They are able to reduce population densities of *Meloidogyne* spp. (Nježić et al., 2014) by releasing nematicidal or repellent exudates, making juveniles unviable for infection (Francilino et al., 2017; Munhoz et al., 2017; Wang et al., 2018).

The active portion of the root-knot nematodes life cycle occurs within the soil profile. After hatching, second-stage juveniles (J2s) migrate randomly in search of host roots (Bilgrami and Gaugler, 2004). Whenever good host exudates are sensed, J2s coordinately migrate towards to and penetrate root tissues, which initiate the parasitism (Elling, 2013; Moreira et al., 2018; Robinson and Perry, 2006). Although chemotaxis is

considered the most important host-finding trait for root-knot nematodes (Andaló et al., 2014), the mechanisms of root exudate attraction are not completely elucidated. It is reported that chemotactic responses are species-specific for *Meloidogyne* spp. The migration of *M. incognita* and *M. graminicola* was faster towards good hosts, tomato and rice, respectively, when compared to mustard (Dutta et al., 2011; Reynolds et al., 2011). Juveniles of *M. incognita* have also shown preferential migration towards tomato plants located at different distances in soil columns and pipette-bulb assays (Dalzell et al., 2011; Prot, 1976). On the other hand, Pinkerton et al. (1987) did not observe an increase on migration rates of *M. chitwoodi* under tomato roots when compared to host-free conditions. Francilino et al. (2017) reported a highly repellent effect of chopped roots of *Tagetes patula* on the horizontal migration of *Pratylenchus coffeae*, however aqueous extracts were not able to inhibit vertical migration of *M. chitwoodi* and *P. penetrans* (Nježić et al., 2014).

Soil column assays are more likely to reflect field conditions (Spence et al., 2008) and may help improve methods for *Meloidogyne* spp. control. Nonetheless, little is known on the migration of *M. enterolobii* within the soil. Our objectives were to evaluate and compare the migration of J2s of *M. enterolobii* and *M. incognita* in soil columns under different plant stimuli.

MATERIALS AND METHODS

Meloidogyne inoculum

Populations of *M. enterolobii* and *M. incognita* were maintained and multiplied separately in clay pots filled with sandy soil containing tomato cv. Cobra (*Solanum lycopersicum*), where approximately 5,000 eggs were inoculated per plant. The pots were kept inside greenhouses at the University of Florida, campus Gainesville. Plants were taken out of the pots for egg extractions 60 days after inoculation.

Root systems were thoroughly washed twice by immersion in clean water to remove soil debris. Roots were cut into 2 to 5-cm pieces and then blended in 0.52% sodium hypochlorite (NaOCl) solution for 20 s. Then, the suspension from the blender was poured in a set of 200 and 500 mesh sieves (Hussey and Barker, 1973). The material retained in the 500-mesh sieve was poured into modified Baermann funnels at 27 °C in 2-ply “Kleenex” tissue paper (Rodríguez-Kábana and Pope, 1981). Juveniles collection was performed for 3 days every 24 h, after discarding the J2s collected from the first 24

h. The suspension with mobile J2s were kept under refrigeration until the beginning of the experiment.

Seedlings of Tomato and *Tagetes patula*

Seeds of tomato and *T. patula* (variety “Petite”) were sown one per cell into seedling trays with vermiculite as substrate. Later, the trays were kept inside greenhouses to allow germination. Four weeks after germination, seedlings were removed from trays and used in the treatments with plant stimuli.

Experimental device

Migration of J2s of *M. enterolobii* and *M. incognita* was evaluated in polyvinyl chloride (PVC) soil columns based on Pinkerton et al. (1987) (Fig. 1). Each column was built by taping three 4-cm long rings to top of one 2-cm ring (inoculation ring). The internal diameter of each ring was 4.4 cm. Then a Styrofoam cup was attached to the upper end of the columns, totaling five sections per column. Heat-sterilized Candler soil (96% sand, 2% silt, 2% clay, and 0.27% organic matter) was used to fill the columns to 1.2 Kg dm⁻³ bulk density (similar to field conditions).

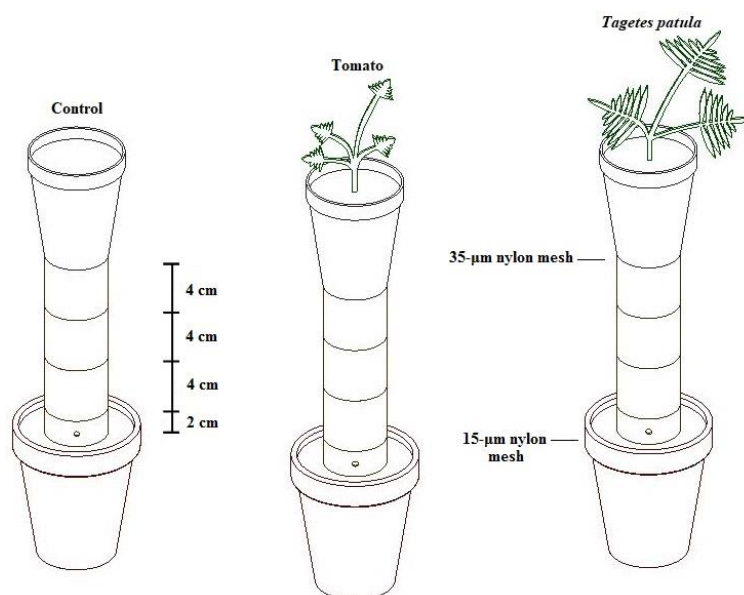


Figure 1. PVC columns used in migration assays. The hole for nematode inoculation is located 1 cm above the base of each column.

Bottomless Styrofoam cups were attached to the columns containing around 300 g of the same soil and either one seedling of tomato or *T. patula* or no plant (control treatment). To prevent root growth into the device, a 35-µm nylon mesh was placed between the columns and the cups (Prot, 1976). At the base of the columns, a 15-µm mesh

was attached to avoid J2s losses (Pudasaini et al., 2007). The assemblies were transferred to growth chambers at 20 °C under a completely randomized block design with four replicates and 16h light/8h dark photoperiod regime. During the experiment, columns were maintained at 10% water content by daily watering the amount of water lost by evapotranspiration. The irrigation water was at the same temperature as the growth chambers to mitigate the effects of temperature oscillation during or after irrigation.

Approximately $1,000 \pm 100$ J2s of *M. enterolobii* or *M. incognita*, in 1 ml of suspension, were injected into the inoculation ring, 1 cm above the lower end of the columns. Sampling was performed by dismantling the columns at 3, 6 and 9 days after inoculation (DAI), following the five sections. Juveniles were extracted from the soil of each ring and cup by the centrifugal-flotation technique (Jenkins, 1964) and then counted under a stereomicroscope to determine nematode distribution along the columns. Juveniles were classified as active or inactive, the later were deteriorated or did not move. During each sampling, tomato and *T. patula* roots were washed and separate for acid fuchsin staining (Byrd et al., 1983) to observe the J2s able to penetrate roots. Root and shoot weights were measured.

Statistical analysis

Prior to statistical analyses, nematode counts were transformed to $\sqrt{x+0.5}$ to meet MANOVA assumptions. The effects of plant stimuli and time on the vertical migration of J2s of *M. enterolobii* and *M. incognita* were tested through a repeated measures MANOVA. Chi-square test was performed on significant interactions to compare J2s distribution, while Tukey's multiple comparison test was performed on J2s inside the roots. All of the analyses were performed on RStudio environment (RStudio Team, 2015).

RESULTS AND DISCUSSION

No J2s of either species was found trapped in the nylon meshes. The distribution of recovered J2s differed between nematode species ($P < 0.01$) and it was influenced by distance migrated (section) ($P < 0.0001$) and time ($P < 0.05$) separately, and a significant interaction among nematode species, section and time was observed ($P < 0.01$, Table 1). The migration of active J2s of *M. enterolobii* and *M. incognita* along the column was not affected by the plant stimuli ($P > 0.05$), but there was significant interaction among time, nematode species and section ($P < 0.0001$).

Table 1. Repeated measure MANOVA summary of the effects of Plant Stimulus, Section and Time on second-stage juveniles (J2s) of *Meloidogyne enterolobii* and *M. incognita* vertical migration in PVC columns filled with sandy soil.

Source	df	Recovered J2s				Active J2s			
		SS	MS	F	p-value	SS	MS	F	p-value
Block	3	27.00	9.10	1.828	0.1424	32.70	10.90	3.08	0.0281
Nema	1	39.80	39.80	7.972	0.0051	1.50	1.50	0.43	0.5118
Stimulus (Stim)	2	3.40	1.70	0.341	0.7115	5.40	2.70	0.76	0.4684
Section (Sec)	4	4842.80	1210.70	242.642	<0.0001	1732.40	433.10	122.05	<0.0001
Nema*Stim	2	19.60	9.80	1.969	0.1417	18.60	9.30	2.63	0.0739
Nema*Sec	4	244.00	61.00	12.225	<0.0001	456.00	114.00	32.12	<0.0001
Stim*Sec	8	30.40	3.80	0.759	0.6389	12.00	1.50	0.41	0.9119
Nema*Stim*Sec	8	34.40	4.30	0.863	0.5486	10.40	1.30	0.37	0.9348
Time	2	38.80	19.40	3.884	0.0218	8.60	4.30	1.22	0.2972
Time*Nema	2	22.40	11.20	2.243	0.1082	24.20	12.10	3.41	0.0346
Time*Stim	4	20.40	5.10	1.021	0.3969	15.20	3.80	1.06	0.3746
Time*Sec	8	334.40	41.80	8.370	<0.0001	204.00	25.50	7.18	<0.0001
Time*Nema*Stim	4	18.80	4.70	0.942	0.4401	23.60	5.90	1.66	0.1587
Time*Nema*Sec	8	124.00	15.50	3.116	0.0022	152.80	19.10	5.39	<0.0001
Time*Stim*Sec	16	70.40	4.40	0.892	0.5792	40.00	2.50	0.71	0.7844
Time*Nema*Stim*Sec	16	107.20	6.70	1.337	0.1745	84.80	5.30	1.50	0.1013

df: degree of freedom; SS: Sum of squares; MS: Mean square.

During the active phase of the life cycle (Das et al., 2011), J2s of plant-parasitic nematodes move randomly through soil (Curtis, 2008) before sensing chemical attractants of a suitable host (Davis et al., 2014), thereafter they will migrate coordinately towards the host roots (Bilgrami and Gaugler, 2004). In migration assays, Prot (1976) have observed preferential migration of J2s of *M. javanica* towards tomato plants placed at different distances from the inoculation point. Juveniles of *M. incognita* and *M. graminicola* have used the shortest migration route towards good host roots (tomato and rice, respectively) in olfactometer assay (Reynolds et al., 2011). However, similar vertical migration of *M. chitwoodi* were observed under tomato and stimulus-free conditions (Pinkerton et al., 1987), which is comparable to our results even under *T. patula* stimuli, though their extracts are used to suppress root-knot nematodes. Nježić et al. (2014) evaluated the migration of *M. chitwoodi* in columns with extracts from tomato and *T. patula* plants and observed a similar behavior.

Nematode migration also depends on soil physical attributes, including pore size and the thickness of water film adhered to soil particles (Ferris and Ferris, 1998; Wallace, 1958a,b). Sandy soil have wider pores, thus nematode migration might be improved (Gallardo et al., 2015). However, less than 1% of J2s of *Meloidogyne incognita* were able

to migrate 20 cm in pure silica sand; when 5% or 10% of clay was added the migration increase to 25% on average (Prot and van Gundy, 1981). It is noteworthy to mention that the clay content in soils must not be greater than 30% for *Meloidogyne* spp. migration (van Gundy, 1985).

Although recovered J2s of both species were concentrated in the inoculation ring throughout the experiment, *M. enterolobii* showed a faster migration than *M. incognita* (Fig. 2). *M. enterolobii* was able to reach the top of the columns as early as 3 DAI while *M. incognita* was only observed at distances greater than 13 cm at 6 DAI, even if in very small percentages. More than 30% of *M. enterolobii* J2s reached the top of the columns at 9 DAI, while less than 2% of *M. incognita* were recovered at the same period (Fig. 2). Residence time in soil is a key factor for infection potential of juveniles (Rocha et al., 2016), the more time they spend migrating within the soil the less their infection potential due to continuous consumption of lipid reserves (Pudasaini et al., 2007; Rocha et al., 2010). Wallace (1966) observed greater inoculum viability of *M. javanica* around a maximum of 8 DAI.

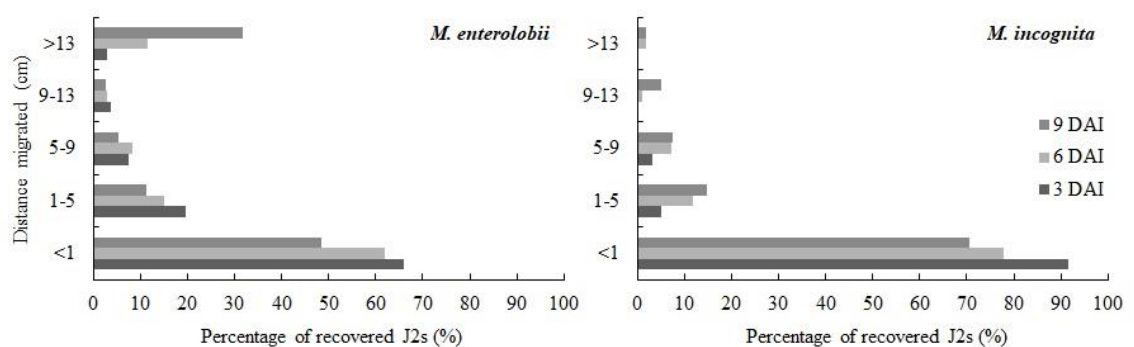


Figure 2. Distribution of recovered second-stage juveniles (J2s) of *Meloidogyne enterolobii* and *M. incognita* as a function of distance migrated (cm) at 3, 6 and 9 days after inoculation (DAI) along PVC columns composed of 4-cm long x 4.4-cm internal diameter sections. Nematode distribution was statistically different according to χ^2 test ($P < 0.01$).

At 3 DAI, the greatest percentage of active J2s was found at the inoculation ring, regardless of species. At the same time, 2% of *M. enterolobii* J2s were able to migrate more than 13 cm, reaching the cups with plants, whereas *M. incognita* J2s reached the third section, migrating only 5 to 9 cm (Fig. 3). At 6 DAI, active J2s of *M. incognita* were able to reach the top of the experimental device (> 13 cm), even in small percentages of 3%, while *M. enterolobii* showed a much higher percentage of active J2s in the soil of the cups (nearly 24%). At 9 DAI, most of the active J2s of *M. enterolobii* were found at

distances over 13 cm (47%), on the other hand, *M. incognita* J2s showed a slower migration rate, with only 2% recovered from the top of the experimental device, and more than 60% still found on the inoculation ring (Fig. 3).

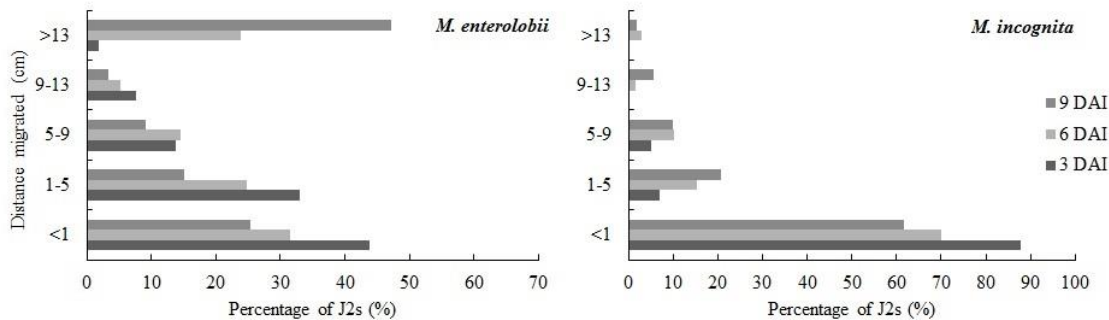


Figure 3. Distribution of active second-stage juveniles (J2s) of *Meloidogyne enterolobii* and *M. incognita* as a function of distance migrated (cm) at 3, 6 and 9 days after inoculation (DAI). Nematode distribution was statistically different according to χ^2 test ($P < 0.01$).

Our results indicate that the migration rate of *Meloidogyne* spp. is a species-specific behavior. Under the same experimental conditions, populations of *M. incognita* showed greater migration and penetration than *M. javanica* (Prot, 1978). The migration of *M. hapla* was not as fast as two races of *M. chitwoodi* under 12, 18 and 24 °C (Pinkerton et al., 1987). The expressive migration of *M. enterolobii* observed in our experiment might be related to the high aggressiveness reported to this nematode (Rashidifard et al., 2018).

Penetration of *M. enterolobii* inside tomato roots differed significantly of *T. patula* roots (Table 2). Juveniles of *M. enterolobii* were able to penetrate tomato roots at 3 DAI, but J2s of *M. incognita* were observed at 6 DAI. *T. patula* plants were parasitized later, 9 DAI, by both species, however, almost no juvenile was found during the three sampling times in *T. patula* (Fig. 4). Root exudates are a mixture of attractive and repellent substances (Chaisson and Hallem, 2012), making the host-finding ability of nematodes a complex trait (Dutta et al., 2011). *Tagetes* spp. has suppressive properties to several plant-parasitic nematodes, especially *Meloidogyne* (Kalaiselvam and Devaraj, 2011), with reports showing they are resistant to *M. incognita* (Buena et al., 2008). Possibly, *T. patula* plants have more repellent compounds to *M. incognita* than to *M. enterolobii*. Further studies must be performed to elucidate how nematodes, through their sensory organs, are able to distinguish attractive and repellent substances of root exudates from the same host (Dutta et al., 2012).

Table 2. Repeated measure MANOVA summary of the effects of Plant stimulus and Time on penetration of second-stage juveniles (J2s) of *Meloidogyne enterolobii* and *Meloidogyne incognita*.

Source	J2s inside roots				
	df	SS	MS	F	p-value
Block	3	0.50	0.17	0.30	0.8258
Nema	1	10.26	10.26	18.35	0.0002
Stimulus (Stim)	1	13.55	13.55	24.22	<0.0001
Nema*Stim	1	2.12	2.12	3.80	0.0598
Time	2	11.93	5.96	10.66	<0.0001
Time*Nema	2	1.34	0.67	1.20	0.3135
Time*Stim	2	2.71	1.36	2.43	0.1040
Time*Nema*Stim	2	4.27	2.14	3.82	0.0323

df: degree of freedom; SS: Sum of squares; MS: Mean square.

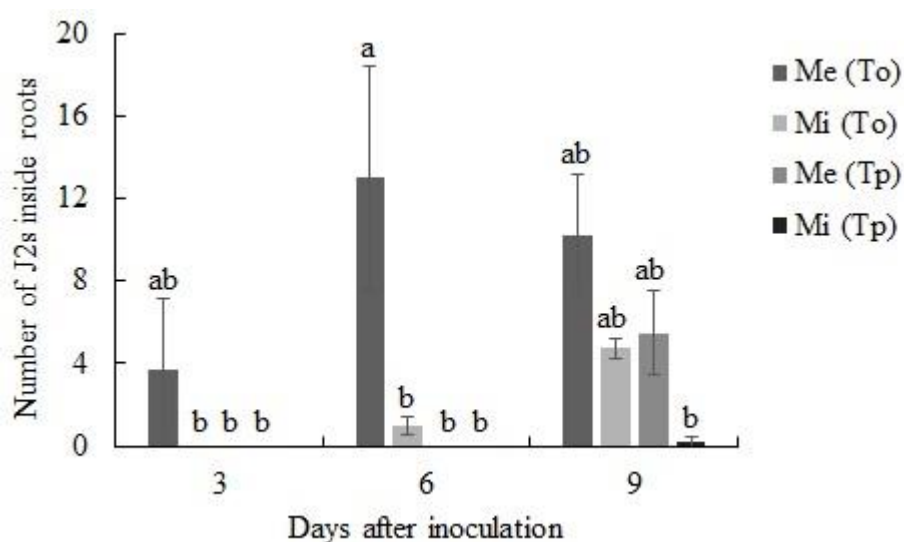


Figure 4. Penetration of second-stage juveniles (J2s) of *Meloidogyne enterolobii* (Me) and *M. incognita* (Mi) on Tomato (To) and *Tagetes patula* (Tp) plants after vertically migrating in sandy soil columns. Figures followed by the same letter do not differ significantly according to Tukey's multiple comparison test ($P \geq 0.05$).

Plant development is fundamental for nematode migration because root exudation is the means by which J2s will locate hosts (Dutta et al., 2012; Mbega; Nzogela, 2012), and a given host's attractiveness is proportional to its root system growth (Prot, 1980). There was no significant increase in root weights of tomato and *T. patula* over time during the experiment. Other studies reported that *M. incognita* was able to migrate 0.7 cm h⁻¹ (Pline and Dusenbery, 1987) and 5 cm in 1 day without plant stimuli at 20 °C (Fujimoto et al., 2010). Additionally, Prot and van Gundy (1981) observed an average of 90 J2s inside tomato roots located 21 cm from the inoculation ring at 7 DAI at 26 °C.

CONCLUSIONS

Meloidogyne enterolobii and *M. incognita* migrate freely in soil independent of the presence of plant stimulus. The ability to migrate over great distances varies among *Meloidogyne* species. Under the experimental conditions, juveniles of *M. enterolobii* migrate faster than *M. incognita* and are able of penetrating tomato roots as early as 3 DAI, while both species penetrate *Tagetes patula* roots just at 9 DAI.

LITERATURE CITED

- ANDALÓ, V.; MOREIRA, G. F.; MOINO JUNIOR, A. *Heterorhabditis amazonenses* RSC5 (Rhabditida: Heterorhabditidae) movement and host recognition. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 40, n. 1, p. 91-97, 2014.
- BILGRAMI, A. L.; GAUGLER, R. Feeding behavior. In: GAUGLER, R.; BILGRAMI, A. L. (Eds.). **Nematode behaviour**. Wallingford: CAB International, 2004. p. 63-90.
- BUENA, A. P.; DÍEZ-ROJO, M. A.; LÓPEZ-PÉREZ, J. A.; ROBERTSON, L.; ESCUER, M.; BELLO, A. Screening of *Tagetes patula* L. on different populations of *Meloidogyne*. **Crop Protection**, v. 27, p. 96-100, 2008.
- BYRD, D. W. JR.; KIRKPATRICK, T.; BARKER, K. R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, v. 15, n. 1, p. 142-143, 1983.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; HIDALGO-DÍAZ, L.; MARTINS, I.; SILVA, K. F. A. S.; SOUSA, M. G.; TIGANO, M. S. Effect of nematophagous fungi on reproduction of *Meloidogyne enterolobii* on guava (*Psidium guajava*) plants. **Nematology**, Flórida, v. 13, n. 6, p. 721-728, 2011.
- CHAISSON, K. E.; HALLEM, E. A. Chemosensory behaviors of parasites. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 10, p. 427-436, 2012.
- CORREIA, E. C. S. S.; SILVA, N.; COSTAS, M. G. S.; WILCKEN, S. R. S. Reproduction of *Meloidogyne enterolobii* in lettuce cultivars of the American group. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 147-150, 2015.
- CURTIS, R. H. C. Plant-nematode interactions: Environmental signals detected by the nematode's chemosensory organs control changes in the surface cuticle and behaviour. **Parasite**, v. 15, p. 310-316, 2008.
- DALZELL, J. J.; KERR, R.; CORBETT, M. D.; FLEMING, C. C.; MAULE, A. G. Novel bioassays to examine the host-finding ability of plant-parasitic nematodes. **Nematology**, v. 13, n. 2, p. 211-220, 2011.
- DAS, S.; WESEMAEL, W. M. L.; PERRY, R. N. Effect of temperature and time on the survival and energy reserves of juveniles of *Meloidogyne* spp. **Agricultural Science Research**, v. 1, n. 5, p. 102-112, 2011.

DAVIS, R. F.; EARL, H. J.; TIMPER, P. Effect of simultaneous water deficit stress and *Meloidogyne incognita* infection on cotton yield and fiber quality. **Journal of Nematology**, v. 46, n. 2, p. 108-118, 2014.

DUTTA, T. K.; POWERS, S. J.; KERRY, B. R.; GAUR, H. S.; CURTIS, R. H. C. Comparison of host recognition, invasion, development and reproduction of *Meloidogyne graminicola* and *M. incognita* on rice and tomato. **Nematology**, v. 13, n. 5, p. 509-520, 2011.

DUTTA, T. K.; POWERS, S. J.; GAUR, H. S.; BIRKETT, M.; CURTIS, R. H. C. Effect of small lipophilic molecules in tomato and rice root exudates on the behaviour of *Meloidogyne incognita* and *M. graminicola*. **Nematology**, v. 14, n. 3, p. 309-320, 2012.

ELLING, A. A. Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. **Phytopathology**, v. 103, n. 11, p. 1092-1102, 2013.

FERRIS, J. M.; FERRIS, V. R. Biology of plant-parasitic nematodes. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAM, G. L. **Plant and nematode interactions**. Hardcover: American Society of Agronomy, 1998. p. 21-35.

FRANCILINO, A. H.; PEDROSA, E. M. R.; SILVA, E. F. F.; ROLIM, M. M.; CARDOSO, M. S. O.; MARANHÃO, S. R. V. L. Efeito do fluxo de água, isca vegetal e volume de poros do solo na mobilidade de *Pratylenchus coffeae*. **Nematropica**, v. 47, n. 1, p. 63-73, 2017.

FUJIMOTO, T.; HASEGAWA, S.; OTOBE, K.; MIZUKUBO, T. The effect of soil water flow and soil properties on the motility of second-stage juveniles of the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 1065-1072, 2010.

GALLARDO, J. Á. M.; VALDÉS, T. D.; RUVALCABA, L. P.; MOLAR, R. A.; TORRES, J. V.; FASIO, J. A. C. Nematodos fitoparasitos y su relación con factores edáficos de papaya em Colima, México. **Revista Mexicana de Ciências Agrícolas**, v. 6, n. 1, p. 251-257, 2015.

GOMES, V. M.; SOUZA, R. M.; MUSSI-DIAS, V.; SILVEIRA, S. F.; DOLINSKI, C. Guava decline: A complex disease involving *Meloidogyne mayaguensis* and *Fusarium solani*. **Journal of Phytopathology**, Malden, v. 159, n. 1, p. 45-50, 2011.

GUIMARÃES, L. M. P.; MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R. Parasitismo de *Meloidogyne mayaguensis* em diferentes espécies botânicas. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 139-147, 2003.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v. 57, p. 1025-1028, 1973.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v. 48, n. 9, p. 692, 1964.

JIANG, C.; XIE, P.; LI, K.; XIE, Y.; CHEN, L.; WANG, J.; XU, Q.; GUO, J. Evaluation of root-knot nematode disease control and plant growth promotion potential of biofertilizer Ning shield on *Trichosanthes kirilowii* in the field. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, p. 232-239, 2018.

KALAISELVAM, I. DEVARAJ, A. Effect of root exudates of *Tagetes* sp. on egg hatching behavior of *Meloidogyne incognita*. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 2, n. 10, p. 93-96, 2011.

KHALIL, M. S. E. H.; ALLAM, A. F. G.; BARAKAT, A. S. T. Nematicidal activity of some biopesticide agents and microorganisms against root-knot nematode on tomato plants under greenhouse conditions. **Journal of Plant Protection Research**, Poznań, v. 52, n. 1, p. 47-52, 2012.

KIEWNICK, S.; DESSIMOZ, M.; FRANCK, L. Effects of the *Mi-1* and the *N* root-knot nematode-resistance gene on infection and reproduction of *Meloidogyne enterolobii* on tomato and pepper cultivars. **Journal of Nematology**, v. 41, n. 2, p. 134-139, 2009.

KOHLI, D.; CHIDAMBARANATHAM, P.; PRASANTH TEJ KUMAR, J.; SINGH, A. K.; KUMAR, A.; SIROHI, A.; SUBRAMANIAM, K.; SRINIVASAN, R.; BHARADVAJA, N.; JAIN, P. K. Host-mediated RNAi of a Notch-like receptor gene in *Meloidogyne incognita* induces nematode resistance. **Parasitology**, v. 145, n. 14, p. 1896-1906, 2018.

KORTHALS, G. W.; THODEN, T. C.; VAN DEN BERG, W.; VISSER, J. H. M. Long-term effects of eight soil health treatments to control plant-parasitic nematodes and *Verticillium dahlia* in agro-ecosystems. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 76, p. 112-123, 2014.

MARAHATTA, S. P.; WANG, K.; SIPES, B. S.; HOOKS, C. R. R. Effects of *Tagetes patula* on active and inactive stages of root-knot nematodes. **Journal of Nematology**, v. 44, n. 1, p. 26-30, 2012.

MBEGA, E. R.; NZOGELA, Y. B. Strategies used by plant parasitic nematodes to conquer the host. **Journal of Animal & Plant Science**, v. 14, n. 1, p. 1848-1854, 2012.

MOENS, M.; PERRY, R. N.; STARR, J. L. Meloidogyne species – a diverse group of novel and important plant parasites. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds.). **Root-knot Nematodes**. Wallingford: CAB International, 2009. p. 1-17.

MOREIRA, F. J. C.; SILVA, M. C. B.; RODRIGUES, A. A.; TAVARES, M. K. N. Alternative control of root-knot nematodes (*Meloidogyne javanica* and *M. enterolobii*) using antagonists. **International Journal of Agronomy and Agricultural Research**, v. 7, n. 2, p. 121-129, 2015.

MOREIRA, F. J. C.; ARAÚJO, B. A.; LOPES, F. G. N.; SOUSA, A. A. L.; SOUSA, A. E. C.; ANDRADE, L. B. S.; UCHOA, A. F. Assessment of the *Tephrosia toxicaria* essential oil on hatching and mortality of eggs and second-stage juveniles (J₂) root-knot nematode (*Meloidogyne enterolobii* and *M. javanica*). **Australian Journal of Crop Science**, v. 12, n. 12, p. 1829-1836, 2018.

MUNHOZ, V. M.; BAIDA, F. C.; LOPES, G. C.; SANTIAGO, D. C.; SOUZA, J. R. P.; MELLO, J. C. P. Extract and semi-purified fractions of *Tagetes patula* flowers in the control of root-knot nematodes. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 6, p. 3529-3538, 2017.

NICOL, J. M.; TURNER, S. J.; COYNE, D. L.; NIJS, L.; HOCKLAND, S.; MAAFI, T. Z. Current nematode threats to world agriculture. In: JONES, J.; GHEYSEN, G.; FENOLL, C. (Eds.) **Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions**. Dordrecht: Springer, 2011. p. 21-43.

NJEŽIĆ, B.; SUTTER, N.; MOENS, M. Interaction of *Tagetes patula* cv. Single Gold with the life cycle of the plant-parasitic nematodes *Meloidogyne chitwoodi* and *Pratylenchus penetrans*. **Russian Journal of Nematology**, v. 22, n. 2, p. 101-108, 2014.

NTALLI, N. G.; CABONI, P. Botanical nematicides: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 9929-9940, 2012.

OKA, Y. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments – A review. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 44, n. 2, p. 101-115, 2010.

OKA, Y.; BEN-DANIEL, B.; COHEN, Y. Nematicidal activity of the leaf powder and extracts of *Myrtus communis* against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Plant Pathology**, Malden, v. 61, n. 6, p. 1012-1020, 2012.

PINKERTON, J. N.; MOJTAHEDI, H.; SANTO, G. S.; O'BANNON, J. H. Vertical migration of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. hapla* under controlled temperature. **Journal of Nematology**, v. 19, n. 2, p. 152-157, 1987.

PLINE, M.; DUSENBERY, D. Responses of plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita* to carbon dioxide determined by video camera-computer tracking. **Journal of Chemical Ecology**, v. 13, n. 4, p. 873-888, 1987.

PLOEG, A. T. Greenhouse studies on the effect of marigolds (*Tagetes* spp.) on four *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, v. 31, n. 1, p.62-69, 1999.

PROT, J. Amplitude et cinétique des migrations du nématode *Meloidogyne javanica* sous l'influence d'un plant de tomate. **Cahiers – ORSTOM. Série biologie**, v. 6, n. 3, p. 157-166, 1976.

PROT, J. Horizontal migrations of second-stage juveniles of *Meloidogyne javanica* in sand in concentration gradients of salts and in a moisture gradient. **Revue de Nématologie**, v. 2, n. 1, p. 17-21, p. 1978.

PROT, J. Migration of plant-parasitic nematodes towards plant roots. **Revue de Nématologie**, v. 3, n. 2, p. 305-318, 1980.

PROT, J.; van GUNDY, S. D. Effect of soil texture and the clay component on migration of *Meloidogyne incognita* second-stage juveniles. **Journal of Nematology**, v. 13, n. 2, p. 213-217, 1981.

PUDASAINI, M. P.; VIAENE, N.; MOENS, M. The influence of host and temperature on the vertical migration of *Pratylenchus penetrans*. **Nematology**, v. 9, n. 3, p. 437-447, 2007.

RASHIDIFARD, M.; FOURIE, H.; VÉRONNEAU, P.; MARAIS, M.; DANEEL, M. S.; MIMEE, B. Genetic diversity and phylogeny of South African *Meloidogyne* populations using genotyping by sequencing. **Scientific Reports**, v. 8, p. 13816, 2018.

REYNOLDS, A. M.; DUTTA, T. K.; CURTIS, R. H. C.; POWERS, S. J.; GAUR, H. S.; KERRY, B. R. Chemotaxis can take plant-parasitic nematodes to the source of a chemo-attractant via the shortest possible routes. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 8, n. 57, p. 568-577, 2011.

ROBINSON; A. F.; PERRY, R. N. Behaviour and sensory perception. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. (Eds.). **Plant Nematology**. Wallingford: CAB International, 2006. p. 210-233.

ROCHA, F. S.; CAMPOS, V. P.; SOUZA, J. T. Variation in lipid reserves of second-stage juveniles of *Meloidogyne exigua* in a coffee field and its relationship with infectivity. **Nematology**, v. 12, n. 3, p. 365-371, 2010.

RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; POPE, M. H. A simple incubation method for the extraction of nematodes from soil. **Nematropica**, v. 11, n. 2, p. 175-186, 1981.

RStudio Team (2015). **RStudio**: Integrated Development for R. Boston, MA: RStudio, Inc. Available at: <http://www.rstudio.com/>

SPENCE, K. O.; LEWIS, E. E.; PERRY, R. N. Host-finding and invasion by entomopathogenic and plant-parasitic nematodes: Evaluating the ability of laboratory bioassays to predict field results. **Journal of Nematology**, v. 40, n. 2, p. 95-98, 2008.

van GUNDY, S. D. Ecology of *Meloidogyne* spp. - emphases on environmental factors affecting survival and pathogenicity. In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. **An advanced treatise on Meloidogyne. v. 1**. Raleigh: North Carolina University Graphics, 1985. p. 177-182.

WALLACE, H. R. Movement of eelworms. I. The influence of pore size and moisture content of the soil on the migration of larvae of the beet eelworm, *Heterodera schachtii* Schmidt. **Annals of Applied Biology**, v. 46, n. 1, p. 74-85, 1958a.

WALLACE, H. R. Movement of eelworms. II. A comparative study of the movement in soil of *Heterodera schachtii* Schmidt and of *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) Filipjev. **Annals of Applied Biology**, v. 46, n. 1, p. 86-94, 1958b.

WALLACE, H. R. Factors influencing the infectivity of plant parasitic nematodes. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 164, p. 592-614, 1966.

WANG, C.; MASLER, E. P.; ROGERS, S. T. Response of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita* infective juveniles to root tissues, root exudates, and root extracts from three plant species. **Plant Disease**, v. 102, n. 9, p. 1733-1740, 2018.

WESTERICH, J. N.; ROSA, J. M. O.; WILCKEN, S. R. S. Estudo comparativo da biologia de *Meloidogyne enterolobii* (= *M. mayaguensis*) e *Meloidogyne javanica* em tomateiro com gene *Mi*. **Phytopathologica**, v. 37, n. 1, p. 35-41, 2011.

Conclusões Gerais

CAPÍTULO IV

CONCLUSÕES GERAIS

Juvenis de *M. enterolobii* migram mais rapidamente que *M. incognita* a 20 °C, podendo atingir distâncias superiores a 13 cm e penetrar as raízes de tomateiro em 3 dias;

A migração de *M. enterolobii* foi mais expressiva a 26 °C;

A ausência de estímulo vegetal não afeta a migração de *M. enterolobii* e *M. incognita* em colunas de solo, contudo, a penetração de *M. enterolobii* varia com a espécie vegetal; ocorrendo maior penetração dos juvenis em raízes de tomateiro do que *Tagetes patula*.