



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA**

**FRANCISCO BRUNO DA SILVA CAFÉ**

**ASPECTOS BIOLÓGICOS DO NEMATOIDE DO CISTO DAS CACTÁCEAS,**  
***Cactodera cacti*, EM PITAIA**

**FORTALEZA**

**2019**

FRANCISCO BRUNO DA SILVA CAFÉ

ASPECTOS BIOLÓGICOS DO NEMATOIDE DO CISTO DAS CACTÁCEAS,  
*Cactodera cacti*, EM PITAIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Fitossanidade.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Carmem Dolores Gonzaga Santos .

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

C132a Café, Francisco Bruno da Silva.

Aspectos biológicos do nematoide do cisto das cactáceas, *Cactodera cacti*, em pitaia / Francisco Bruno da Silva Café. – 2019.

84 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2019.

Orientação: Profa. Dra. Carmem Dolores Gonzaga Santos.

1. Heteroderidae. 2. Fitonematoides. 3. Hylocereus. I. Título.

CDD 630

---

FRANCISCO BRUNO DA SILVA CAFÉ

ASPECTOS BIOLÓGICOS DO NEMATOIDE DO CISTO DAS CACTÁCEAS,  
*Cactodera cacti*, EM PITAIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Fitossanidade.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Carmem Dolores Gonzaga Santos (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Dagoberto Saunders de Oliveira  
Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará (ADAGRI)

---

Dr. José Emilson Cardoso  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Agroindústria Tropical (EMBRAPA)

Aos meus pais, Antonio e Socorro.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu pai Antonio Carlos e à minha mãe Socorro Café, pelo amor incondicional, incentivo, por estarem sempre presentes em toda a minha vida e por sempre acreditarem na minha capacidade. Vocês são meus principais exemplos de caráter e de vida!

À Universidade Federal do Ceará, pela estrutura que me permitiu desenvolver todo o trabalho ao longo destes dois anos.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico, FUNCAP, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

Minha gratidão à Profa. Dra. Carmem Dolores Gonzaga Santos por todo o apoio, confiança, orientação, dedicação, paciência e pelo exemplo de profissional que és.

Aos participantes da banca examinadora Dr. Dagoberto Saunders e Dr. Emilson Cardoso, pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Ao Prof. Dr. Juvenil Enrique Cares, pela disponibilidade e pela realização das análises morfométricas do nematoide *Cactodera cacti* como também das fotos feitas em MEV em seu laboratório na Universidade de Brasília.

Aos meus amigos do Laboratório de Fitopatologia, Natália de Jesus, Rhannaldy Benício, Letícia Vasconcelos, Lucas Vidal, Francisco Câmara, Jonathas Nunes, Victor Sampaio, Sarah Santana, Ana Júlia, Francisco Taironio e, principalmente, Laianny Moraes, por toda a amizade, ajuda, paciência, companhia e por tornar os dias no laboratório mais alegres.

À minha namorada Isabelle Abreu, pela paciência e pelo companheirismo em todos os momentos do curso e da vida.

Ao meus amigos Tiago Freitas e Marcio Regys, pela amizade e por todo o apoio em todos os meus projetos.

Aos meus novos amigos da Pós-Graduação que o Programa me proporcionou.

A todo o corpo docente que participou desta trajetória desde o colégio, principalmente aos professores do Colégio Juvenal de Carvalho e do Departamento de Fitotecnia.

Aos meus amigos de infância, dos tempos de colégio e familiares, que de alguma forma contribuíram para essa realização.

*“O sucesso é a soma de pequenos esforços repetidos dia após dia.”*

*Robert Collier*

## RESUMO

Os heteroderídeos destacam-se na agricultura mundial pelos danos causados nas culturas e por sua larga sobrevivência no solo por meio de estruturas denominadas cistos. No Ceará, o nematoide do cisto das cactáceas, *Cactodera cacti*, é o único fitonematoide da família Heteroderidae presente. Este patógeno foi registrado no estado em 2016 ocorrendo naturalmente em mandacaru, *Cereus jamacaru*. Tendo em vista que o *C. cacti* afeta cactáceas exploradas economicamente em diversos países e considerando a ameaça desse nematoide para o estado do Ceará onde há cultivos comerciais de cactáceas, este trabalho teve por objetivos: 1) estudar o ciclo de vida de *C. cacti* em pitaia vermelha, *Hylocereus* sp.; 2) avaliar a capacidade de multiplicação de *C. cacti* pela contagem de ovos e juvenis de segundo estágio (J2) em 70 cistos; 3) determinar o tempo para formação e eclosão de juvenis *in vitro*; 4) avaliar a viabilidade de 50 cistos em solo seco sem hospedeira por 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias e por 26 meses; 5) investigar suas hospedeiras. No estudo do ciclo de vida do *C. cacti* em pitaia vermelha observou-se que fêmeas com ovos surgiram aos 18 dias e os cistos aos 24 dias após a inoculação. Na determinação da capacidade de multiplicação de *C. cacti* em pitaia vermelha, constatou-se que o número de ovos e J2 por cisto variou de 91 a 232, sendo mais comum cistos contendo uma faixa de 100 a 150 indivíduos. Na definição do tempo para formação e eclosão de juvenis *in vitro*, observou-se que o surgimento de juvenis de primeiro estágio e de segundo estágio, ocorreu com quatro e oito dias, respectivamente, e que a eclosão aconteceu aos 11 dias da avaliação. Na investigação da sobrevivência dos cistos nos intervalos de 30 a 180 dias, constatou-se que houve formação de 2.033 a 2.496 cistos em raízes de pitaia cultivadas por 45 dias em vasos de cada tratamento. O tempo de 26 meses não afetou a viabilidade dos cistos, tendo sido possível observar mais de 1.300 cistos e fêmeas em raízes após 45 dias do plantio de pitaia. Na investigação de plantas hospedeiras, em inoculações com 2.000 ovos de *C. cacti* em espécies vegetais das famílias Apiaceae, Cactaceae, Crassulaceae, Euphorbiaceae, Lamiaceae e Solanaceae, avaliadas após 45 dias, verificou-se que apenas as espécies vegetais da família Cactaceae foram infectadas por *C. cacti*, apresentando fator de reprodução de 2,3 a 13,98. Observou-se que, particularmente em pitaia vermelha, o patógeno aumenta bastante a sua população e em curto espaço de tempo.

**Palavras-chave:** Heteroderidae. Fitonematoides. *Hylocereus*.

## ABSTRACT

Heteroderids stand out in world agriculture for crop damage and long soil survival through structures called cysts. In Ceará, the cactaceous cyst nematode, *Cactodera cacti*, is the only phytonematode of the Heteroderidae family present. This pathogen was registered in the state in 2016 naturally occurring in mandacaru, *Cereus jamacaru*. Considering that *C. cacti* affects economically exploited cactus in several countries and considering the threat of this nematode to the state of Ceará where there is commercial cultivation of cactus, this study aimed to: 1) study the life cycle of *C. cacti* in red pitahaya, *Hylocereus* sp .; 2) to evaluate the multiplication capacity of *C. cacti* by counting second stage eggs and juveniles (J2) in 70 cysts; 3) determine the time for formation and hatching of juveniles *in vitro*; 4) evaluate the viability of 50 cysts in dry soil without host for 30, 60, 90, 120, 150 and 180 days and for 26 months; 5) investigate your hosts. In the life cycle study of *C. cacti* in red pitahaya it was observed that females with eggs suck at 18 days and cysts at 24 days after inoculation. In determining the multiplication capacity of *C. cacti* in red pitahaya, it was found that the number of eggs and J2 per cyst ranged from 91 to 232, with cysts containing a range of 100 to 150 individuals being more common. In the definition of the time for formation and hatching of juveniles *in vitro*, it was observed that the emergence of first and second stage juveniles occurred with four and eight days, respectively, and that the hatching occurred at 11 days of evaluation. Investigating the survival of cysts at intervals of 30 to 180 days, it was found that 2,033 to 2,496 cysts were formed in pitahaya roots grown for 45 days in pots of each treatment. The time of 26 months did not affect the viability of the cysts, and it was possible to observe more than 1,300 cysts and females in roots after 45 days of planting pitahaya. In the investigation of host plants, in inoculations with 2,000 *C. cacti* eggs in plant species of families Apiaceae, Cactaceae, Crassulaceae, Euphorbiaceae, Lamiaceae and Solanaceae, evaluated after 45 days, it was found that only plant species of Cactaceae family were infected by *C. cacti*, presenting a reproduction factor of 2.3 to 13.98. It was observed that, particularly in red pitahaya, the pathogen greatly increases its population and in a short time.

**Keywords** Heteroderidae. Phytonematodes. *Hylocereus*.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Aspectos morfológicos de nematoides formadores de cisto. A a D: formato do cisto: A- Limoniforme, com cone vulvar proeminente, comum a *Afenestrata* e a maioria dos *Heterodera*; B- Limoniforme, com cone vulvar diminuto, comum a *Cactodera* e alguns *Heterodera*; C- Ovoide, comum a *Punctodera* e *Dolichodera*; D- Globoso, comum a *Globodera*. E a H: Padrões de fenestração na região posterior do cisto: E a G- Região anal não fenestrada: E- Ambifenestração; F- Bifenestração; G- Circunfenestração; H- Fenestração da região anal, circunfenestração ..... 26
- Figura 2 – Mudanças de pitaia vermelha (*Hylocereus* sp.) com 30 dias de enraizamento em casa de vegetação ..... 36
- Figura 3 – Suspensão de fêmeas e cistos obtida após extração em placa de Petri de onde foram retirados cistos de cor bege, pardo e marrom claro (setas) para contagem de ovos e juvenis ..... 39
- Figura 4 – Cisto de 28 dias após a inoculação, aberto para contagem do número de ovos e J2 em câmara de Peters ..... 39
- Figura 5 – Detalhe do ensaio de determinação do período de viabilidade dos cistos no solo: A– Vaso com solo autoclavado onde foram depositados os 50 cistos de *C. cacti* alocados em um microtubo antes de serem depositados no solo. B– Pitaia com 30 dias de enraizamento a ser plantada nos vasos com cistos, após cada tratamento (30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias após a infestação do solo) ..... 41
- Figura 6 – Ciclo de vida de *Cactodera cacti* em *Hylocereus* sp. .... 44
- Figura 7 – Fêmea jovem de *C. cacti* com ovos observada aos 18 dias após a inoculação, sinalizando o fim do ciclo de vida do fitonematoide em pitaia ..... 45
- Figura 8 – Estádios de desenvolvimento de *C. cacti* em *Hylocereus* sp. após

	o método de coloração com fucsina ácida. A - J2 cilíndrico aos 9 dias após a inoculação (DAI); B - J3 aos 12 DAI; C – J4 aos 12 DAI; D - Fêmea jovem sem ovos aos 15 DAI; E – Fêmea com ovos aos 18 DAI .....	47
Figura 9	– Nove ovos unicelulares de <i>C. cacti</i> mantidos em placa de Petri com água sob microscópio ótico no: A- 1º dia; B- 4º dia; C- 8º dia; D- 11º dia (setas) .....	54
Figura 10	– Detalhe da raiz de pitaiia e da suspensão de <i>C. cacti</i> obtida na avaliação da sobrevivência de cistos no solo em vasos após 26 meses sem hospedeira. A – Fêmea de <i>C. cacti</i> em raízes de pitaiia 45 dias após o transplântio da planta para o vaso com solo infestado; B – Detalhe da suspensão com numerosas fêmeas e cistos obtida após extração do nematoide da raiz e do solo .....	58
Figura 11	– Plantas de pitaiia vermelha com nove meses de idade. Esquerda: Pitaiias sadias. Direita: Pitaiias cloróticas inoculadas com 2.000 ovos de <i>C. cacti</i> há sete meses .....	63
Figura 12	– Detalhe da raiz de pitaiia com infecção mista. A - Cisto de <i>C. cacti</i> (seta) em uma galha formada por <i>M. incognita</i> em <i>C. jamaçaru</i> ; B - Fêmea de <i>M. incognita</i> (seta) retirada da mesma galha em mandacaru .....	64
Figura 13	– Detalhe da suspensão obtida após extração de nematoides em raiz de <i>C. jamaçaru</i> ; A- Raiz de mandacaru com infecção mista (close - cisto); B– Suspensão obtida com a presença de abundantes cistos e fêmeas de <i>C. cacti</i> e fêmeas de <i>M. incognita</i> ; C- Fêmea jovem, cisto pardo e cisto marrom de <i>C. cacti</i> acima de duas fêmeas de <i>M. incognita</i> .....	65

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Número de cistos por intervalo de 50 indivíduos (ovos e juvenis de segundo estágio) de *C. cacti* ..... 50
- Gráfico 2 – Porcentagens de eclosão de juvenis de segundo estágio oriundos de ovos unicelulares obtidos de fêmeas de *C. cacti* em água destilada e fervida ..... 52
- Gráfico 3 – Porcentagens de eclosão de juvenis de segundo estágio de *C. cacti* oriundos de ovos com indivíduo já formado obtidos de cistos e mantidos em água mineral e água destilada e fervida ..... 53

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Quantificação dos estádios de desenvolvimento de *C. cacti* em pitaia durante o acompanhamento de seu ciclo de vida após extração de nematoides de raiz e após coloração de nematoides na raiz com fucsina ácida ..... 48
- Tabela 2 – Média do número de cistos obtido após os tempos de 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias após a infestação do solo com 50 cistos de *C. cacti* e 45 dias após o transplântio da pitaia ..... 57
- Tabela 3 – Resultado da avaliação da hospedabilidade das 12 espécies inoculadas com 2.000 ovos de *C. cacti* após 45 dias da inoculação. 60
- Tabela 4 – Fator de reprodução e média do número de ovos em pitaia vermelha (*Hylocereus* sp.) e flor-de-maio (*Schlumbergera truncata*) inoculadas com 2.000 ovos aos 45 dias após a inoculação ..... 61
- Tabela 5 – Fator de reprodução e média do número de ovos em pitaia vermelha (*Hylocereus* sp.) e pitaia amarela (*Selenicereus* sp.) inoculadas com 2.000 ovos aos 45 dias após a inoculação ..... 62

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

J1	Juvenil de primeiro estágio
J2	Juvenil de segundo estágio
J3	Juvenil de terceiro estágio
J4	Juvenil de quarto estágio
FR	Fator de reprodução
DAI	Dias após a inoculação
ADeF	Água destilada e fervida

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	19
2.1	A família Cactaceae .....	19
2.1.1	<i>A cultura da pitaia</i> .....	21
2.2	Fitonematoídes .....	23
2.3	A família Heteroderidae .....	25
2.3.1	<i>O gênero Heterodera</i> .....	27
2.3.2	<i>O gênero Cactodera</i> .....	31
3	MATERIAL E MÉTODOS .....	34
3.1	Ciclo de vida de <i>Cactodera cacti</i> em <i>Hylocereus</i> sp. ....	34
3.1.1	<i>Obtenção das mudas de Hylocereus sp.</i> .....	34
3.1.2	<i>Obtenção do inóculo</i> .....	33
3.1.3	<i>Inoculação de pitaia com C. cacti para estudo do ciclo de vida</i> .....	34
3.1.4	<i>Acompanhamento do ciclo</i> .....	37
3.2	Capacidade de multiplicação de <i>Cactodera cacti</i> em pitaia pela contagem de ovos e J2 por cisto .....	38
3.3	Determinação do tempo para formação e eclosão de juvenis <i>in vitro</i> .....	40
3.4	Determinação do período de viabilidade dos cistos no solo .....	40
3.5	Hospedabilidade de <i>Cactodera cacti</i> .....	42
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	44
4.1	Ciclo de vida de <i>Cactodera cacti</i> em <i>Hylocereus</i> sp. ....	44
4.2	Capacidade de multiplicação de <i>Cactodera cacti</i> em pitaia pela contagem de ovos e J2 por cisto .....	50
4.3	Determinação do tempo para formação e eclosão de juvenis <i>in vitro</i> .....	52
4.4	Determinação do período de viabilidade dos cistos no solo .....	57
4.5	Hospedabilidade de <i>Cactodera cacti</i> .....	60
5	CONCLUSÃO .....	66
	REFERÊNCIAS .....	67
	APÊNDICE A - COMPARAÇÃO ENTRE A SUSPENSÃO OBTIDA	

PELO MÉTODO DE SHEPHERD (1970) E A SUSPENSÃO OBTIDA PELO "MÉTODO CS". A- SUSPENSÃO OBTIDA A PARTIR DE SOLO INFESTADO COM <i>C. CACTI</i> PELO MÉTODO SHEPHERD APRESENTANDO MUITO RESÍDUO; B-: SUSPENSÃO OBTIDA A PARTIR DE SOLO INFESTADO COM <i>C. CACTI</i> PELO "MÉTODO CS" APRESENTANDO POUCO RESÍDUO; C- ASPECTO DA SUSPENSÃO (1 ML) SOMENTE COM CISTOS OBTIDA PELO MÉTODO DE SHEPHERD, COM RESÍDUO; D- ASPECTO DA SUSPENSÃO (1 ML) COM FÊMEAS E CISTOS OBTIDA PELO "MÉTODO CS", MAIS LIMPA. (SETAS = CISTOS) .....	73
APÊNDICE B - FÊMEAS JOVENS, FÊMEA MADURA E CISTO DE <i>C. CACTI</i> OBTIDAS APÓS EXTRAÇÃO DO NEMATOIDE DE RAIZ DE PITAIA .....	74
APÊNDICE C - DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE OVOS DE <i>C. CACTI</i> : OVO UNICELULAR ATÉ A ECLOSÃO DO JUVENIL DE SEGUNDO ESTÁDIO. OBSERVAÇÃO E MICROSCÓPIO ÓTICO (400X) .....	75
APÊNDICE D - OVO DE <i>C. CACTI</i> COM JUVENIL FORMADO EM SEU INTERIOR E COM ASPECTO RUGOSO EM SUA SUPERFÍCIE .	76
APÊNDICE E - CISTO DE <i>C. CACTI</i> SOB MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA .....	77
APÊNDICE F - DETALHE DO CONE VULVAR DE UM CISTO DE <i>C. CACTI</i> SOB MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA .....	78
APÊNDICE G - JUVENIS DE SEGUNDO ESTÁDIO (J2) EM MICROSCÓPIO ÓTICO (100X). A- <i>C. CACTI</i> ; B- <i>M. INCOGNITA</i> .....	79
APÊNDICE H - DETALHE DO ESTILETE DE UM JUVENIL DE SEGUNDO ESTÁDIO DE <i>C. CACTI</i> EM SOB MICROSCÓPIO ÓTICO (400X) .....	80
APÊNDICE I - FÊMEAS DE <i>C. CACTI</i> (SETAS) PARASITANDO O SISTEMA RADICULAR DE FLOR-DE-MAIO ( <i>S. TRUNCATA</i> ) AOS 45 APÓS A INOCULAÇÃO .....	81
APÊNDICE J - FÊMEA DE <i>C. CACTI</i> EM RAIZ DE PITAIA AMARELA ( <i>SELENICEREUS</i> SP.) AOS 45 DIAS APÓS A INOCULAÇÃO .....	82

<b>APÊNDICE K - FÊMEA DE <i>C. CACTI</i> EM RAIZ DE PITAIA VERMELHA APÓS O MÉTODO DE COLORAÇÃO COM FUCSINA ÁCIDA .....</b>	<b>83</b>
<b>APÊNDICE L - QUANTIFICAÇÃO DE OVOS E JUVENIS DE SEGUNDO ESTÁDIO EM 70 CISTOS DE <i>C. CACTI</i> ORIUNDOS EM RAÍZES DE PITAIA .....</b>	<b>84</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A família Cactaceae Juss. possui 176 gêneros e cerca de 2.233 espécies descritas em todo o mundo. No Brasil, são encontradas pelo menos 269 espécies inseridas em 39 gêneros. Dentre as espécies de ocorrência no país, destaca-se a pitaita, *Hylocereus* sp. A pitaita, ou fruta do dragão, é uma frutífera em constante ascensão em termos de mercado entre as frutas exóticas no Brasil (MOREIRA *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2005; THE PLANT, 2013).

A cultura da pitaita possui diversos problemas fitossanitários relacionados a insetos, como cochonilhas (*Dactylopius* spp.), arapuás (*Trigona spinipes*), vespas sociais (*Polistes* spp. e *Polybia* spp.) e formigas saúvas (*Atta* spp.) (LIMA e GAMA, 2001; MARQUES *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2007). Quanto às doenças, as de origem fúngica são pouco conhecidas, sendo a principal a antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (TAKAHASHI *et al.*, 2008). Outros fungos que afetam a pitaita são *Aureobasidium* sp. e *Curvularia* sp., os quais provocam manchas amarelas a necróticas nos cladódios (ALMEIDA, 2018). *Fusarium oxysporum* também já foi relatado causando murcha em pitaita (MORA, 2012). Existem poucos relatos de bactérias e de vírus patogênicos a esta cactácea, com destaque para enterobactérias e o *Cactus virus X* (LIOU, CHEN E LIOU, 2001; VALENCIA-BOTÍN *et al.*, 2012).

As doenças causadas por nematoides são muito frequentes na cultura da pitaita em todo o mundo. Foram assinalados mais frequentemente os fitonematoides *Helicotylenchus dihystera* e algumas espécies dos gêneros *Meloidogyne*, *Tylenchus*, *Aphelenchus*, *Pratylenchus* e *Cactodera* (CHAN *et al.*, 2016; PIEDRAHITA, PÉREZ E PATIÑO, 2012).

Na família Heteroderidae estão algumas das principais espécies de fitonematoides do mundo, com destaque aos da subfamília Heteroderinae que formam estruturas de resistência denominadas cistos (EVANS e ROWE, 1998; SIDDIQI, 2000).

No Brasil, duas espécies de heteroderídeos já haviam sido descritas, *Heterodera fici* (MONTEIRO, LORDELLO E LORDELLO, 1977) e *H. glycines* (MENDES e DICKSON, 1993). Uma espécie da família Heteroderidae, *C. cacti*, foi constatada ocorrendo em cactáceas ornamentais em estufas (OLIVEIRA, *et al.*, 2007; SANTOS, PREZOTTO e MAIA, 2001). No Ceará, o nematoide do cisto das

cactáceas é o único fitonematoide da família Heteroderidae presente. Este patógeno foi registrado no estado em 2016 ocorrendo naturalmente em mandacaru, *Cereus jamacaru* (REBOUÇAS, 2017). Este nematoide, espécie tipo do gênero, foi primeiramente descrito como uma raça da *Heterodera schachtii* adaptada à família Cactaceae, apesar de notórias diferenças biológicas e morfológicas. Em seguida, esse fitonematoide foi descrito como uma nova espécie, *Heterodera cacti*, até que, por fim, foi transferido para um novo gênero, sendo descrito como *Cactodera cacti* (EVANS e ROWE, 1998; GOFFART, 1936; STONE, 1985).

No que diz respeito a sua importância econômica para suas hospedeiras, ainda não se pode afirmar sobre a relevância do *C. cacti* para as cactáceas alimentícias e ornamentais com valor de mercado (EVANS e ROWE, 1998). No entanto, esse fitopatógeno pode se tornar importante e vir a comprometer o desenvolvimento e produção de espécies cultivadas, a exemplo do que ocorreu com o *H. glycines* que rapidamente se dispersou e afetou a cultura da soja e de outras fabáceas no Brasil (MENDES e DICKSON, 1993).

No Ceará, nenhum levantamento foi realizado para se constatar a ocorrência e dispersão de *C. cacti* em áreas de cultivo de cactáceas. Sabe-se que o heteroderídeo tem sido relatado em diversas regiões do mundo afetando várias espécies vegetais, sobretudo da família Cactaceae constituindo uma ameaça às suas hospedeiras (ESSER, 1992). Em razão da escassez de estudos com esse nematoide relacionado aos seus aspectos biológicos, este trabalho teve por objetivos: 1) estudar o ciclo de vida de *C. cacti* em pitaia; 2) avaliar a capacidade de multiplicação de *C. cacti* em pitaia; 3) determinar o tempo para formação e eclosão de juvenis *in vitro*; 4) avaliar a viabilidade de cistos em solo não cultivado; 5) investigar possíveis espécies hospedeiras.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A família Cactaceae

A família Cactaceae Juss., que pertence à classe Magnoliopsida e à ordem Caryophyllales, possui 176 gêneros e cerca de 2.233 espécies no mundo (THE PLANT, 2013; WALACE e GIBSON, 2002). No Brasil, são encontradas 269 espécies dentro de 43 gêneros, sendo estes: *Arrojadoa* Britton & Rose, *Arthrocerus* A. Berger, *Brasilicereus* Backeb., *Brasiliopuntia* (K. Schum.) A. Berger, *Cereus* Mill., *Cipocereus* Ritter, *Cleistocactus* Lem., *Coleocephalocereus* Backeb., *Discocactus* Pfeiff., *Disocactus* Lindl., *Echinopsis* Zucc., *Epiphyllum* Haw., *Eriosyce* Phil., *Espositoopsis* Buxb., *Facheiroa* Britton & Rose, *Frailea* Britton & Rose, *Gymnocalycium* Pfeiff. ex Mittler, *Harrisia* Britton, *Hatiora* Britton & Rose, *Hylocereus* (A. Berger) Britton & Rose, *Leocereus* Britton & Rose, *Lepismium* Pfeiff., *Mammillaria* Haw., *Melocactus* Link & Otto, *Micranthocereus* Backeb., *Nopalea* Salm-Dyck, *Opuntia* Mill., *Parodia* Speg., *Pereskia* Mill., *Pfeiffera* Salm-Dyck, *Pilosocereus* Byles & Rowley, *Praecereus* Buxb., *Pseudoacanthocereus* F. Ritter, *Pseudorhipsalis* Britton & Rose, *Quiabentia* Britton & Rose, *Rhipsalis* Gaertn., *Schlumbergera* Lem., *Selenicereus* (A. Berger) Britton & Rose, *Stephanocereus* A. Berger, *Stetsonia* Britton & Rose, *Strophocactus* Britton & Rose, *Tacinga* Britton & Rose e *Uebelmannia* Buining (ZAPPI *et. al.*, 2015). Representa, no Brasil, a segunda maior família em número de espécies entre as angiospermas, ficando atrás apenas da família Bromeliaceae com 3.010 espécies (ZAPPI, TAYLOR e LAROCCA, 2011).

A família Cactaceae divide-se em quatro subfamílias: Cactoidae, Maihuenioideae, Opuntioideae e Pereskioideae, predominantemente distribuídas no continente americano, sendo o Brasil, o terceiro maior centro de diversidade das cactáceas com um total de 162 espécies nativas (LIMA, 2014), estando logo abaixo da região que inclui o México e sul dos Estados Unidos e da região andina (Peru, Bolívia e Argentina). O Estado de Minas Gerais é a unidade federal com o maior número de espécies, seguido por Bahia e Rio Grande do Sul, o que mostra sua fácil adaptação a diversos domínios fitogeográficos como o Cerrado, Caatinga, Mata Atlântica, Floresta Tropical Úmida, Pampas, entre outros (ZAPPI *et. al.*, 2015).

As cactáceas são plantas perenes com hábitos arbóreos, arbustivos, trepadeiras, epífitas e geófitas. Seu caule é esverdeado, normalmente segmentado e

frequentemente sem folhas e com espinhos, com função fotossintetizante com formatos variando de colunar, cilíndrico, globoso, tuberculado, podendo haver costelas ou ser achatado. Possuem flores que chamam bastante atenção, normalmente isoladas e hermafroditas. Os frutos podem ser carnosos ou secos, escamosos, deiscentes ou indeiscentes, com numerosas sementes podendo haver ou não endosperma. As raízes podem ser fibrosas ou tuberosas (BARTHLOTT e HUNT, 1993).

Xerófitas, adaptam-se muito bem a ambientes áridos com disponibilidade de água sazonal devido a um mecanismo utilizado para concentrar CO<sub>2</sub> em torno da enzima rubisco, denominado metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), fazendo com que não haja fotorrespiração nessas plantas. Além desse mecanismo, as cactáceas possuem características que minimizam a perda de água, como cutículas grossas, grandes vacúolos e estômatos abertos apenas no período noturno (TAIZ *et al.*, 2017).

As cactáceas são muito utilizadas para a alimentação animal, porém em diversos países da América Latina, elas são utilizadas também como alternativa alimentar para as pessoas. *Melocactus* (coroa-de-frade), *Pilosocereus* (facheiro), *Opuntia* (palma) e *Pereskia* (ora-pro-nobis) são muito utilizados na fabricação de doces, bolos e cocadas, ou seja, alimentos para a população, principalmente para consumidores da gastronomia exótica e para população de baixa renda, que podem utilizá-los como uma nova fonte de renda (SILVA *et al.*, 2005).

Menezes, Taylor e Loiola (2013) fizeram um levantamento dos representantes da família Cactaceae no estado do Ceará e foram encontrados 12 gêneros e 24 táxons, sendo estes: *Arrojadoa rhodantha*, *Brasiliopuntia brasiliensis*, *Cereus albicaulis*, *C. jamacaru* subsp. *jamacaru*, *Discocactus bahiensis*, *D. zehntneri* subsp. *zehntneri*, *Epiphyllum phyllanthus*, *Harrisia adscendens*, *Hylocereus setaceus*, *Melocactus oreas* subsp. *oreas*, *M. violaceus* subsp. *violaceus*, *M. zehntneri*, *Pereskia aculeata*, *P. grandifolia* subsp. *grandifolia*, *Pilosocereus catingicola* subsp. *salvadorensis*, *P. chrysostele* subsp. *chrysostele*, *P. chrysostele* subsp. *cearensis*, *P. flavipulvinatus*, *P. gounellei* subsp. *gounellei*, *P. pachycladus* subsp. *pernambucoensis*, *Rhipsalis baccifera* subsp. *baccifera*, *Tacinga inamoena*, *T. palmadora* e *T. subcylindrica*.

Dentre as principais espécies de cactáceas presentes no estado do Ceará destaca-se o gênero *Hylocereus*, conhecidas como pitaias, devido ao constante

aumento na sua importância econômica em razão da comercialização de seus frutos no mercado de frutas exóticas (ANDRADE, MARTINS e SILVA, 2007).

### **2.1.1 A cultura da pitaia**

Pertencente à subfamília Cactoidae, os diversos tipos de pitaia agrupam-se em quatro gêneros: *Cereus*, *Hylocereus*, *Selenicereus* e *Stenocereus*, com destaque para as pitaias comerciais com casca vermelha e polpa vermelha ou branca que pertencem ao gênero *Hylocereus* e para a de casca amarela e polpa branca do gênero *Selenicereus* (LE BELLEC, VAILLANT e IMBERT, 2006; MOREIRA *et. al.*, 2012).

Os frutos das espécies de pitaia, cuja denominação significa fruta escamosa, são popularmente chamados de fruta do dragão numa tradução literal de outros idiomas. Possui seu centro de origem na América Tropical e Subtropical, provavelmente no México e, ou na Guatemala (ZAPPI *et. al.*, 2015). Trata-se de uma planta perene com expectativa de produção para mais de 15 anos. No Brasil, a pitaia tem se destacado por ser uma frutífera bastante promissora em termos de mercado, valorizando-se cada vez mais entre as frutas exóticas (MOREIRA *et. al.*, 2012).

A utilização da pitaia pode ser pelo consumo como fruta fresca, suco, polpa, sorvete e até mesmo como corante alimentício. A fruta possui propriedades nutracêuticas devido a presença de captina, um tônico cardíaco, e de um óleo com efeito laxante que pode ser utilizado no controle de gastrite, dor de cabeça e infecções dos rins (DONADIO, 2009).

Constam 25 espécies no gênero *Hylocereus*, entretanto ainda existem contradições em relação à sua classificação botânica que, provavelmente, são explicadas por aspectos morfológicos e condições ambientais muito semelhantes. Caracterizam-se como plantas trepadeiras que carregam uma fruta com grandes escamas, caules de médio a longo porte e de cor verde. Suas flores são laterais, longas, chegando a 29 centímetros e perfumadas quando se abrem à noite. Seu fruto vermelho-rosado possui comprimento de 15 a 22 centímetros pesando em torno de 300 a 800 gramas. Possui formato oblongo e coberto com escamas grandes e compridas, vermelhas e verdes nas pontas. Possui polpa comestível, de cor branca ou vermelha, com muitas sementes pequenas de cor negra, textura agradável e bom sabor. O fruto desenvolve-se rapidamente e pode ser colhido em

torno de 30 a 40 dias após a fecundação. Adapta-se bem a condições com temperaturas entre 18 e 26°C, altitudes até 1.850 metros e chuvas entre 1.200 e 1.500 mm anuais. Prefere climas subúmidos com solos bem drenados (DONADIO, 2009; LE BELLEC, VAILLANT e IMBERT, 2006; TEL-ZUR *et. al.*, 2004).

As pitaias do gênero *Selenicereus* possuem seu centro de origem na Colômbia ou no Equador. No Brasil, são encontradas, principalmente, em campos rupestres do cerrado, porém há relatos desta frutífera nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Bahia, Paraná, Rondônia, Roraima e Amapá (JUNQUEIRA *et al.*, 2002; ZAPPI *et al.*, 2015). A morfologia da planta é bastante semelhante à da pitaias do gênero *Hylocereus*, diferindo pelo fato de seus cladódios serem mais finos e mais longos e de seu fruto possuir casca amarela e polpa branca. Outra característica que as distingue é tempo para maturação do fruto, que nas espécies dentro do gênero *Selenicereus* o amadurecimento procrastina por até seis meses após a fecundação (DONADIO, 2009).

Há um tempo, a pitaias era totalmente desconhecida por boa parte da população. Entretanto, com o passar dos anos está havendo uma valorização no mercado dos frutos exóticos em todo o mundo. No Brasil, a pitaias está sendo cultivada em São Paulo desde a década de 1990 e o município de Catanduva-SP vem se destacando como o principal produtor do país, com produção ocorrendo de dezembro a maio com produtividade chegando a 14 toneladas do fruto por hectare. No Ceará, também há regiões produtoras, como na Chapada do Apodi, nos municípios de Limoeiro do Norte e Quixeré (ANDRADE, MARTINS e SILVA, 2007; NUNES *et. al.*, 2014).

Quanto aos aspectos fitossanitários, as principais pragas da cultura da pitaias são as formigas saúva e lava-pés, que provocam amarelecimento e queda de flores e brácteas, e os irapuás, que ao raspar a casca podem ocasionar orifícios no fruto, depreciando-o (MARQUES *et. al.*, 2012).

Apesar do aumento da área cultivada em todo o mundo, pouco se conhece sobre os problemas fitopatológicos nessa cultura. Takahashi *et al.* (2008) fizeram o primeiro relato, na região de Botucatu-SP, de lesões marrons avermelhadas com halos cloróticos associados ao fungo *C. gloeosporioides* em pitaias amarelas. O fungo *Fusarium oxysporum* também já foi relatado causando murcha em pitaias na Colômbia (MORA, 2012). Outro fungo que vem causando manchas cloróticas nos cladódios da pitaias é o *Botryosphaeria dothidea*. No México,

verificou-se que pelo menos duas enterobactérias (gênero *Enterobacter*) estavam relacionadas à podridão-mole em cladódios de *H. undatus* e *H. purpusii* (VALENCIA-BOTÍN *et. al.*, 2012).

Liou, Chen e Liou (2001), em Taiwan, relataram a primeira doença viral em pitiaia, *H. undatus*, causada por *Cactus virus X* o qual provoca o surgimento de um mosqueado nos cladódios. Com relação a nematoides, Piedrahita, Pérez e Patiño (2012) identificaram em levantamentos realizadas na Colômbia, a presença de *Helicotylenchus dihystra* em 100% das pitaias *S. megalanthus*, coletadas em campo de cultivo. Os gêneros *Meloidogyne*, *Tylenchus*, *Aphelenchus* e *Pratylenchus* também foram identificados na área, porém afetando um menor número de plantas. Em 2011, no centro e no sul de Taiwan, cistos de *C. cacti* foram observados pela primeira vez em raízes de *Hylocereus* spp. (CHAN *et. al.*, 2016).

## 2.2 Fitonematoides

Os fitonematoides pertencem ao Filo Nematoda e constituem cerca de 15% das espécies descritas no mundo. São animais aquáticos, em geral fusiformes, que podem ser encontrados em variados ambientes desde que haja umidade para sua sobrevivência. Medem de 0,2 a 3,0 mm de comprimento, não podendo ser vistos a olho nu pelos produtores. Em sua maioria, infectam os órgãos subterrâneos das plantas provocando tumores, atrofias, lesões ou necroses, comprometendo o desenvolvimento da planta que apresenta sintomas de clorose, amarelecimento, subdesenvolvimento e murcha. Tais sintomas secundários dificultam a identificação do real problema pelo agricultor em sua área, pois podem ser confundidos por aqueles causados por outros fitopatógenos ou até mesmo por doenças abióticas. De um modo geral, os produtores subestimam ou não atribuem os estragos constatados nas plantas aos fitonematoides e acabam investindo em fertilizantes (AGRIOS, 2005; FERRAZ e BROWN, 2016; TIHOHOD, 1993).

Os fitonematoides estão divididos em quatro grupos, conforme seu hábito alimentar, são eles: ectoparasitas migradores, ectoparasitas sedentários, endoparasitas migradores e endoparasitas sedentários. Além disso, atuam de diferentes formas em seu hospedeiro por meio de sua ação traumática, provocada pelas estocadas de seu estilete e de seu movimento no interior da hospedeira; ação espoliadora, resultante do desvio de nutrientes que seriam utilizados para o

desenvolvimento da planta; e ação tóxica, decorrente da secreção de enzimas que são prejudiciais à planta (AGRIOS, 2005; MICHEREFF, 2001).

A forma de reprodução entre fitonematoides se dá, predominantemente, por anfimixia, em que há o envolvimento entre machos e fêmeas, estimulado por feromônios sexuais. Estudos com o nematoide de cistos do gênero *Heterodera* indicou que os machos são atraídos pelas fêmeas através de pelo menos seis substâncias, como o ácido vanílico. Nesse gênero uma única fêmea pode ser fertilizada por diversos machos resultando numa variabilidade genética em sua descendência. Seguida da anfimixia, a partenogênese é a segunda forma de reprodução mais comum, não havendo a participação do macho, ou seja, não há fertilização. *Meloidogyne* e espécies do gênero *Heterodera* são exemplos que se reproduzem partenogeneticamente, logo, todos os descendentes são idênticos, não havendo diversidade genética. Também há gêneros de fitonematoides onde o hermafroditismo ocorre, porém são mais raros (AGRIOS, 2005; FERRAZ e BROWN, 2016).

O ciclo biológico dos fitonematoides, em geral, resume-se em seis fases: ovo, quatro estádios juvenis (primeiro, segundo, terceiro e quarto estágio) e adulto, macho ou fêmea. A sucessão dos estádios juvenis se dá por ecdises, ou seja, troca da cutícula anterior por uma maior e mais elástica. Também vale ressaltar que há diferença relacionada à fase juvenil que eclode do ovo. Na classe Enoplea, o indivíduo que eclode é o juvenil de primeiro estágio (J1), já na classe Chromadorea, o indivíduo que eclode é o juvenil de segundo estágio (J2) e a primeira ecdise ocorre ainda dentro do ovo (FERRAZ e BROWN, 2016; MICHEREFF, 2001; TIHOHOD, 1993).

Os nematoides parasitas de plantas, principalmente das famílias Meloidogynidae e Heteroderidae, estão amplamente disseminados em todo o mundo, infectando inúmeras espécies de diversas famílias botânicas causando vários prejuízos na produção, além do abandono de áreas que poderiam ser produtivas. A quantidade de dano é resultado de fatores como densidade populacional, susceptibilidade do hospedeiro e das condições ambientais. Os nematoides são responsáveis por perdas de cerca de 11% da produção mundial, resultando em uma redução de milhões de toneladas por ano (AGRIOS, 2005; FERRAZ e BROWN, 2016; TIHOHOD, 1993).

### 2.3 A família Heteroderidae

A família Heteroderidae possui alguns dos mais importantes parasitas de plantas que se destacam por suas eficientes adaptações ao parasitismo. A fêmea adulta possui formato limoniforme a globoso, cor branca, endoparasita sedentária, com a parte anterior do seu corpo dentro da raiz, onde fica seu sítio de alimentação. A parte posterior rompe o sistema dérmico radicular, expondo-a. Seu sítio de alimentação consiste em um sincício formado pela quebra das paredes celulares entre células adjacentes. O desenvolvimento do sincício inicia-se através da injeção de secreções da glândula dorsal pelo estilete em tecidos do hospedeiro (EVANS e ROWE, 1998; SIDDIQI, 2000).

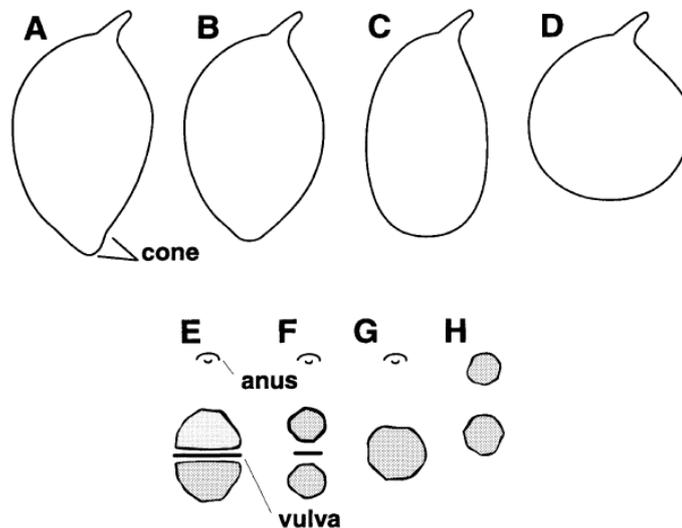
Em alguns gêneros desta família, os ovos ficam todos contidos dentro do corpo da fêmea até sua morte, porém em outros, as fêmeas retêm parte dos ovos em seu corpo e depositam até 200 ovos em uma matriz gelatinosa (SIDDIQI, 2000).

Nesta família, destaca-se a subfamília Heteroderinae por conter os fitonematoides formadores de cistos. Os seis gêneros capazes de formá-los são: *Afenestrata* Baldwin & Bell, 1985, *Cactodera* Krall & Krall, 1978, *Dolichodera* Mulvey & Ebsary, 1980, *Globodera* Skarbilovich, 1959, *Heterodera* Schmidt, 1871 e *Punctodera* Mulvey & Stone, 1976. Estes gêneros diferem principalmente quanto às diversas famílias de hospedeiros como: Poaceae (*Afenestrata* e *Punctodera*); Amaranthaceae, Betuliaceae, Cactaceae, Rosaceae, Polygonaceae, Chenopodiaceae e Portulacaceae (*Cactodera*); Asteraceae, Solanaceae, Onagraceae e Poaceae (*Globodera*) (CARES e HUANG, 2000; EVANS e ROWE, 1998), bem como pelo tipo de fenestra e pela projeção do cone vulvar (Figura 1). Dentre os gêneros formadores de cistos, o *Heterodera* e o *Globodera* são considerados os mais importantes por causar sérios danos e perdas em diversas culturas (FERRAZ e BROWN, 2016).

Cistos são estruturas de resistência originadas a partir da morte da fêmea madura com ovos retidos no interior, seguida do enrijecimento, espessamento e do progressivo escurecimento de sua cutícula. A coloração destas estruturas passa de branca para amarela, depois parda ficando, por fim, com coloração amarronzada, resultante do denominado “tanning” (“bronzeamento”) caracterizado pela ação da enzima polifenoloxidase sobre polifenóis presentes na parede do cisto. Esta estrutura de resistência está diretamente ligada à disseminação desses

fitonematoides, uma vez que, após a retirada da planta do solo, os cistos se desprendem da raiz e ficam no solo, mantendo os ovos viáveis por mais de oito anos na maioria dos relatos. Em alguns casos, como ocorre com *G. rostochiensis*, os cistos permanecem no solo por mais de 20 anos. Estes ficam mantidos em estado de dormência até que haja algum estímulo, seja da hospedeira ou do ambiente, que induza a eclosão dos juvenis de segundo estágio. A umidade do solo junto aos exsudatos radiculares liberados pela hospedeira, por exemplo, afeta a vida e a atividade de ovos e juvenis contidos nos cistos porque a parede do cisto é permeável à água (BALDWIN e MUNDO-OCAMPO, 1991; CARES e BALDWIN, 1995; FERRAZ e BROWN, 2016; TIHOHOD, 1993).

**Figura 1.** Aspectos morfológicos de nematoides formadores de cisto. A a D: formato do cisto: A- Limoniforme, com cone vulvar proeminente, comum a *Afenestrata* e a maioria dos *Heterodera*; B- Limoniforme, com cone vulvar diminuto, comum a *Cactodera* e alguns *Heterodera*; C- Ovoide, comum a *Punctodera* e *Dolichodera*; D- Globoso, comum a *Globodera*. E a H: Padrões de fenestração na região posterior do cisto: E a G- Região anal não fenestrada: E- Ambifenestração; F- Bifenestração; G- Circunfenestração; H- Fenestração da região anal, circunfenestração.



Fonte: Baldwin e Mundo-Ocampo, 1991.

Os machos, apesar de possuírem um estilete bem desenvolvido, não se alimentam. Sobrevivem por até 10 dias com o único propósito de fertilizar a fêmea nas espécies que se reproduzem sexuadamente. Ressalta-se que há também espécies que se reproduzem partenogeneticamente, como a *H. trifolii*, e outras que se reproduzem tanto por anfigimixia como por partenogênese (SIDDIQI, 2000).

Os fitonematoides formadores de cistos possuem ampla distribuição mundial e, segundo Evans *et al.* (2015), esses heteroderídeos juntamente com os fitonematoides formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.) são responsáveis por 80% das perdas de produção causadas por nematoses.

Contudo, no Brasil só há relato de três espécies de heteroderídeos. Primeiramente em 1977, foi relatada infectando figueira, a espécie *H. fici*, patógeno restrito apenas ao gênero *Ficus* (MONTEIRO, LORDELLO e LORDELLO, 1977). A segunda espécie relatada foi *H. glycines*, em 1992, na cultura da soja causando a doença conhecida como nanismo amarelo da soja (MENDES e DICKSON, 1993). No Ceará em 2016, foi relatado o nematoide do cisto das cactáceas, *C. cacti*, infectando naturalmente o mandacaru (REBOUÇAS, 2017).

### **2.3.1 O gênero *Heterodera***

Pertencente à família Heteroderidae e à subfamília Heteroderinae, o gênero *Heterodera* é tido como o mais importante entre os fitonematoides formadores de cistos, aparecendo ao lado do nematoide das galhas como um fitoparasita com complexas e elaboradas estratégias de alimentação (FERRAZ e BROWN, 2016).

O gênero *Heterodera* foi descrito em 1871 descrevendo a espécie *H. schachtii*, que infectava a cultura da beterraba açucareira, causando grandes perdas na Europa. Vinte anos depois *H. goettingiana* foi descrita infectando ervilha. O gênero já possui mais de 60 espécies descritas sendo as principais com grande importância a nível mundial: *H. avenae*, *H. glycines* e *H. schachtii*. Com menor interesse a nível mundial, mas com grande importância em algumas áreas limitadas estão: *H. cruciferae*, *H. carotae* e *H. zae* (CARES e BALDWIN, 1995; FERRAZ e BROWN, 2016; TIHOHOD, 1993).

Há algum tempo admitia-se que espécies desse gênero eram restritas à regiões temperadas como a Europa e América do Norte. Entretanto, atualmente sabe-se que essas espécies encontram-se disseminadas em todo o mundo. No Brasil, assim como no mundo, a espécie de maior destaque é a *H. glycines* que se disseminou no país, para quase todas as regiões produtoras de soja transportada de uma área para outra por meio de torrões de solo contendo cistos. Ressalta-se que o sucesso do gênero *Heterodera* se deve à sua capacidade de sobrevivência, uma vez

que os cistos, após formados, podem permanecer viáveis por oito anos, mesmo na ausência de hospedeiros ou sob condições ambientais desfavoráveis (CARES e BALDWIN, 1995; DIAS *et. al.*, 2009; EVANS e ROWE, 1998).

O nematoide do cisto da soja, *H. glycines*, foi encontrado primeiramente em 1915 no Japão causando uma doença chamada de nanismo amarelo. É considerado o principal parasita da família Heteroderidae e o mais importante fitonematoide da cultura da soja. Além dessa cultura, esse fitonematoide infecta diversas outras hospedeiras, principalmente na família Fabaceae incluindo os gêneros *Phaseolus*, *Trifolium* e *Pisum*. Fora desta família, pode afetar *Geranium* sp. e *Papaver* sp., além de várias plantas daninhas. O primeiro sintoma visualizado em campo é o de plantas com amarelecimento, atrofiadas e menos vigorosas, ocorrendo em reboleiras. As plantas infectadas geralmente apresentam sistema radicular subdesenvolvido e tendem a formar poucos nódulos. Esse nematoide pode ser observado na raiz como pequenos pontos brancos (fêmeas), amarelados ou amarronzados, quando os cistos já estão formados. As plantas infectadas devem ser retiradas do solo cuidadosamente para evitar o desalojamento dos cistos (CARES e BALDWIN, 1995; CUNHA *et. al.*, 2008; SWEETS, 1989).

Em dezembro de 1984, um comunicado técnico publicado pela EMBRAPA/CENARGEN prevenia os produtores de soja sobre os possíveis danos que o nematoide do cisto da soja, *H. glycines*, poderia causar à produção nacional, caso o fitonematoide fosse introduzido no Brasil. No documento, as autoras alertavam para o perigo potencial do patógeno e do cuidado relacionado a entrada clandestina do material vegetal no país (MANSO e TENENTE, 1984).

Entretanto, oito anos após a publicação do comunicado, o nematoide do cisto da soja foi relatado afetando a cultura nos municípios produtores de Campo Verde-MT, Nova Ponte-MG e Chapadão do Sul-MS na safra 1991/92 (MENDES e DICKSON, 1993). Ressalta-se que no município de Campo Verde-MT, onde a sojicultura existia desde 1978, a produtividade que inicialmente era de 3.300 kg/ha, com o passar dos anos, passou a 1.600 kg/ha (safra 1991/92) gerando preocupação entre os produtores. Em uma minuciosa vistoria nas áreas onde havia reboleiras de plantas com amarelecimento e subdesenvolvidas, que sugeriam uma deficiência mineral, foi constatada a presença de cistos em raízes da soja identificados como da espécie *H. glycines*, sendo este o primeiro relato do nematoide no Brasil (LORDELLO, LORDELLO e QUAGGIO, 1992).

Dando continuidade ao levantamento realizado em 65 campos de soja em 52 fazendas em seis estados do país, o fitonematoide foi encontrado também em Chapadão do Céu-GO, Aporé-GO e Iraí de Minas-MG (MENDES e DICKSON, 1993). Atualmente, *H. glycines* encontra-se disseminado por cerca de 150 municípios nos estados de Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul, Bahia, Tocantins e Maranhão (DIAS *et al.*, 2009). A referida espécie não foi relatada no estado do Ceará.

O ciclo de vida do gênero *Heterodera* é bastante semelhante ao do *Meloidogyne*, assim como na maioria dos fitonematoides. O ovo sofre constantes divisões celulares até originar o juvenil de primeiro estágio (J1). Este alimenta-se de reservas lipídicas e proteicas contidas no interior do ovo até que haja a primeira ecdise ainda no interior do ovo, surgindo o juvenil de segundo estágio (J2). Esses J2, fase infectante, eclodem do ovo e, uma vez no solo, são atraídos por exsudatos radiculares liberados por potenciais plantas hospedeiras e, então, penetram nas raízes preferencialmente na região próxima à extremidade apical. Após a penetração, o parasita desloca-se pelo córtex da planta até atingir o cilindro vascular onde inicia a alimentação. Ao selecionar seu sítio de alimentação, o nematoide insere o seu estilete e injeta enzimas provenientes da glândula esofagiana e o juvenil de segundo estágio torna-se sedentário. Ao alimentar-se, os juvenis vão aumentando de tamanho, assumindo o formato salsichoide. Cerca de sete dias após a entrada do J2, ocorre a segunda ecdise, passando para juvenil de terceiro estágio (J3) e, em seguida, outra ecdise dando origem ao juvenil de quarto estágio (J4). Diferentemente dos J3 e J4 do gênero *Meloidogyne* que possuem o estilete e esôfago degenerados, os juvenis salsichoides que originarão fêmeas do gênero *Heterodera* continuam se alimentando normalmente. Os que originarão machos, porém, são incapazes de se alimentar assim como os juvenis salsichoides do nematoide das galhas. Prosseguindo, após a quarta ecdise, o J4 dará origem a um indivíduo adulto. Caso seja uma fêmea, esta seguirá no parasitismo até a maturidade sexual. Ressalta-se nessa fase o progressivo aumento de tamanho do corpo da fêmea, assumindo o formato semelhante a um limão. Caso seja macho, há uma metamorfose gerando um indivíduo fusiforme. O tempo desse ciclo varia de 21 a 25 dias à temperatura de 24 a 26°C, tendendo a aumentar à medida que a temperatura decresça. O aparecimento de cistos se dá por volta dos 32 dias

(CARES e BALDWIN, 1995; CUNHA *et. al.*, 2008; FERRAZ e BROWN, 2016; MOENS, PERRY e JONES, 2018; TIHOHOD, 1993).

Uma característica do gênero é a formação dos sincícios, praticamente não desenvolvendo reações de hipertrofia e hiperplasia nos sítios de alimentação, que resultariam na formação de galhas. Com isso e com a expansão do corpo da fêmea, há a ruptura da periderme da raiz, expondo a região posterior do corpo da fêmea, deixando-as presas apenas pela sua região anterior (FERRAZ e BROWN, 2016).

Outra característica do gênero é uma projeção na região posterior denominada cone vulvar, apresentando algumas estruturas associadas. A principal estrutura é uma região de parede fina com uma abertura, chamada fenestra. Nesse gênero, há a formação de uma ponte que divide a fenestra em duas semifenestras. Outras estruturas presentes no cone vulvar, como a ponte e as “bullae”, possuem interesse taxonômico na caracterização a nível de espécie (FERRAZ e BROWN, 2016).

Em casos esporádicos, no gênero *Heterodera* há a reprodução partenogenética, porém a reprodução por anfimixia prevalece, ou seja, machos são comuns e estes são sexualmente ativos. Comumente, vários são encontrados junto à fêmea, havendo a fecundação de uma fêmea por vários machos, acarretando em uma ampla variabilidade genética nas proles formadas, geração após geração. Após a fecundação, cerca de 10-20% dos ovos são inicialmente expelidos numa massa gelatinosa produzida pela fêmea e depois, os outros 80-90% dos ovos, que podem chegar ao número de 400, ficam retidos no interior do corpo da fêmea, condição essa que provocará sua morte (FERRAZ e BROWN, 2016; MOENS, PERRY e JONES, 2018; TIHOHOD, 1993).

A erradicação desses fitoparasitas é bastante difícil, tendo em vista a existência de cistos e que produtos químicos apenas reduzem a população do patógeno no solo. Deve-se considerar que essa redução é extremamente ineficaz, pois uma fêmea produz cerca de 500 ovos e, após o plantio de uma espécie vegetal hospedeira, a população do nematoide aumentará rapidamente. A rotação de culturas também mostra-se bastante ineficaz, pois os cistos se degeneram muito lentamente, requerendo que a área deva ficar sem plantas hospedeiras por anos, causando um grande prejuízo ao produtor. Torna-se necessário fazer uma substituição de cultura por outra não-hospedeira como: milho, sorgo, algodão, entre

outros. Portanto, as estratégias de manejo mais eficazes contra esses fitoparasitas são: evitar a entrada do nematoide na área e a utilização de cultivares resistentes, quando houver (CARES e BALDWIN, 1995; TIHOHOD, 1993).

### 2.3.2 O gênero *Cactodera*

O gênero *Cactodera* foi descrito em 1978 por Krall e Krall com a espécie tipo *C. cacti* (sinonímia com *H. cacti* Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941). Na Holanda, Goffart (1936) recebeu algumas seções de raiz de uma cactácea ornamental parasitada pelo nematoide. Após alguns estudos, o autor acreditou que o parasita se tratava de uma raça de *H. schachtii* apesar de observar algumas diferenças morfológicas. Nas análises que fez, os cistos do nematoide da cactácea, com forma oval oblonga e cone vulvar reduzido, diferiam daqueles relatados na beterraba (*H. schachtii*) que apresentavam forma de limão e proeminente cone vulvar. Medidas foram feitas em 78 cistos para determinar esses tamanhos. Também notou-se a ausência de massas externas de ovos existentes nas espécies do gênero *Heterodera* (EVANS e ROWE, 1998; STONE, 1985).

No mundo, há 17 espécies descritas no gênero *Cactodera*, número bem inferior às mais de 60 espécies descritas em *Heterodera*. São elas: *C. acridae*, *C. amaranthi*, *C. aquatica*, *C. betulae*, *C. cacti*, *C. chaubattia*, *C. chenopodiae*, *C. eremica*, *C. estonica*, *C. evansi*, *C. galinsogae*, *C. johanseni*, *C. milleri*, *C. rosae*, *C. thorne*, *C. torreyanae* e *C. weissii*. Na sua gama de hospedeiras estão diversas espécies vegetais inseridas nas famílias botânicas: Amaranthaceae, Amaryllidaceae, Asteraceae, Betulaceae, Brassicaceae, Cactaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Fabaceae, Liliaceae, Poaceae, Polygonaceae, Portulacaceae, Rosaceae, Scrophulariaceae, Solanaceae e Vitaceae. O gênero encontra-se bem representado em regiões temperadas, principalmente nas espécies *C. estonica* e *C. cacti*, encontradas em muitos países europeus em plantas ornamentais mantidas em estufas (EVANS e ROWE, 1998; FENG *et. al.*, 2018; NEMABASE, 2018).

A espécie tipo do gênero, *C. cacti*, foi inicialmente relatada em *Phyllocactus akkermanni* Hayworth e em *Cereus speciosa* Watkins. Atualmente, essa espécie está disseminada por todo o mundo, infectando basicamente cactáceas, contudo, há relatos dessa espécie infectando salsaão (*Apium graveolens* L.) da família Apiaceae, *Euphorbia canariensis* L., *E. cereiformis* L., *E. natalensis*

Bernh e *E. enigator*, da família Euphorbiaceae e *Saccharum officinarum* L. da família Poaceae (ESSER, 1992; GOLDEN e RASKI, 1977; LUC, 2012; STELTER e KUHN, 1973; UK, CAB *et al.*, 2014).

As fêmeas de *C. cacti* possuem formato que variam de oval a quase esférico, com um leve cone vulvar quando madura, diferente do cone vulvar proeminente encontrado nas espécies de *Heterodera*. Sua cutícula possui cristas paralelas e com lábios vulvares ausentes. A região vulvar se projeta ligeiramente para fora do contorno do corpo, com uma fenda diminuta, em torno de 20 µm de largura, além de apresentar dentículos em torno da vulva, impossibilitando a passagem de ovos, de forma que todos os ovos formados ficam retidos nos cistos. Os ovos jovens com o embrião ainda em desenvolvimento não possuem em sua parede nenhuma rugosidade na superfície, a qual é observada em ovos a partir do surgimento de juvenis. O ânus é subterminal com ausência de fenestração ao seu redor. Não existe ponte nem “bullae” nessa região e só há uma abertura, característica de um cisto circunfenestrado (CORDERO, BALDWIN E MUNDO-OCAMPO, 1991; STONE, 1985; WOUTS e BALDWIN, 1998).

No Brasil, o nematoide de cisto das cactáceas foi relatado pela primeira vez, ainda como *H. cacti*, em 2001, na cidade de Jundiaí-SP em amostras de alguns lotes de cactáceas ornamentais. Alguns anos depois, *C. cacti* foi encontrada em plantas da cactácea ornamental flor-de-maio (*Schlumbergera* sp.), oriunda de Jundiaí e Jacareí-SP. No estado do Ceará, o mesmo fitoparasita foi encontrado infectando naturalmente mandacaru, sendo o único caso de sua ocorrência em campo no país (OLIVEIRA *et al.*, 2007; REBOUÇAS, 2017; SANTOS, PREZOTTO e MAIA, 2001).

Existem poucas informações a respeito dos aspectos biológicos de *C. cacti*. Em estudos conduzidos com esse fitonematoide por Cordero, Baldwin e Mundo-Ocampo (1991), foi relatado que, após o estabelecimento de um sítio de alimentação, os indivíduos de segundo estágio levam 12 dias para se tornarem adultos (fêmeas). Nesse mesmo estudo foi relatada uma alta taxa de reprodução, entretanto, nenhum macho foi observado, sendo sugerido pelos autores, que a forma de reprodução do nematoide de cisto das cactáceas seja por partenogênese. Vale ressaltar que há diferenças no modo de reprodução entre os heteroderídeos formadores de cistos e até mesmo dentro do gênero *Cactodera*.

No entanto, consta na literatura que *C. estonica*, *C. radiale*, *C. rosae* não formam macho (STURHAN, 2016), contudo nas demais, incluindo a *C. cacti*, ainda que raramente, machos já foram encontrados nas raízes parasitadas de cactáceas (GRANEY e BIRD, 1990). No entanto, Cordero, Baldwin e Mundo-Ocampo (1991) apresentaram em seu trabalho uma preocupação de que os machos de *Cactodera* tenham sido identificados erroneamente em relatos anteriores, uma vez que populações mistas de *Cactodera* e *Punctodera* ou *Meloidogyne* são comumente encontradas em campo.

Os sintomas causados pelo nematoide do cisto das cactáceas são, em geral, descoloração e redução do tamanho da raiz, subdesenvolvimento da parte aérea, murcha, amarelecimento do caule, redução e atraso no florescimento e, em casos extremos, morte. A detecção desse nematoide é complicada, pois os sintomas são bastante semelhantes aos acarretados por outros patógenos ou doenças abióticas. Por esta razão, em cactáceas atrofiadas, em declínio e descoloridas, recomenda-se o exame das raízes (CHO *et. al.*, 1995; ESSER, 1992).

Medidas visando a erradicação desse fitonematoide no campo são consideradas inviáveis, tendo em vista a formação de cistos, os quais conferem a manutenção da viabilidade do patógeno no solo por muitos anos. Portanto, os produtores de cactáceas, devem utilizar práticas dentro das medidas de exclusão, prevenindo a entrada do patógeno em áreas isentas através do uso de material propagativo sadio (ESSER, 1992).

Winkelheide e Sturhan (1996) testaram *in vitro* a bactéria do gênero *Pasteuria* como controle biológico para o *C. cacti*. Os autores concluíram que houve uma alta afinidade dos endosporos da bactéria com os J2 do nematoide, podendo ser uma provável alternativa de controle para o *C. cacti*.

O nematoide do cisto das cactáceas é um patógeno que pode comprometer o desenvolvimento e produção de cactáceas alimentícias e ornamentais em áreas de cultivo no estado do Ceará, particularmente para a pitáia, como já relatado em outros países, representando ainda uma nova ameaça em potencial para o Brasil, em razão de sua forma de dispersão e sobrevivência, a exemplo do que ocorreu com o nematide do cisto da soja, *H. glycines*, na sojicultura no país (EVANS e ROWE, 1998; MANSO e TENENTE, 1984).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

Os ensaios com o *C. cacti* foram iniciados em agosto de 2017 e concluídos em junho de 2019, sendo desenvolvidos em casa de vegetação e no Laboratório de Fitopatologia, ambos pertencentes ao Setor de Fitossanidade, Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Ceará (UFC) - Campus do Pici, Fortaleza-CE.

A temperatura da casa de vegetação foi de  $31\pm 3^{\circ}\text{C}$  monitorada diariamente durante todo o período de realização do experimento.

#### **3.1 Ciclo de vida de *Cactodera cacti* em *Hylocereus* sp.**

Esse experimento foi executado com as seguintes etapas: obtenção das mudas da espécie vegetal utilizada (*Hylocereus* sp.), o preparo do inóculo de *C. cacti*, a inoculação e o acompanhamento do surgimento das fases de vida do patógeno. Esta investigação foi realizada em duas ocasiões, no período de outubro a novembro de 2018 e no período de março a abril de 2019.

##### **3.1.1 Obtenção das mudas de *Hylocereus* sp.**

A espécie vegetal utilizada nesse experimento foi a pitaiia vermelha (*Hylocereus* sp.). Para a obtenção das mudas, retiraram-se cladódios de pitaias mantidas em casa de vegetação do Setor de Fitossanidade as quais foram postas para secar à sombra por 7 dias. Após esse período, as estacas foram colocadas em vasos com capacidade de 1 L, contendo uma mistura peneirada e autoclavada de areia e esterco caprino na proporção 5:1 para enraizamento, o que ocorreu após 30 dias. As mudas de pitaias permaneceram em casa de vegetação durante todo o experimento sendo irrigadas diariamente.

##### **3.1.2 Obtenção do inóculo**

Para a obtenção do inóculo do nematoide do cisto das cactáceas, foram utilizadas raízes infectadas de pitaias inoculadas com ovos do patógeno obtidos a partir do hospedeiro original, mandacaru, e mantidas por pelo menos três meses em

casa de vegetação.

A extração de fêmeas e cistos de *C. cacti* de raízes foi realizada adotando o método de Coolen & D'Herde (1972). Raízes de pitaia foram trituradas em liquidificador com água por um minuto e a suspensão vertida nas peneiras de 20 e 400 mesh sobrepostas. O material retido na peneira de 400 mesh foi recolhido em becker utilizando uma pisseta. Caulim foi adicionado na quantidade de três gramas para cada 100ml de suspensão que, após homogeneizada, foi distribuída em tubos de centrífuga. Equilibrou-se o peso dos tubos os quais foram centrifugados a 2.000 rpm por 5 minutos (Centrífuga Fanem Excelsa II). O sobrenadante foi vertido em peneira de 400 mesh para recolher cistos que não sedimentarem. Ao sedimento nos tubos foi adicionada sacarose a 45%, ressuspendendo-o com um bastão de vidro. Após uma nova centrifugação em tubos a 2.000 rpm por 1 minuto o sobrenadante foi vertido em peneira de 400 mesh e lavados, descartando-se totalmente o sedimento por não conter cistos ou fêmeas. Ao final, os cistos recolhidos ainda na primeira centrifugação dos tubos foram reunidos aos cistos e fêmeas obtidos no fim da extração.

Para a extração de cistos do solo foi adotada uma metodologia adaptada do método da flotação centrífuga em solução de sacarose de Jenkins (1964), comumente empregado para extração de nematoides do solo.

Nessa adaptação da extração de cistos do solo, aqui denominada "Método CS", uma amostra de solo de 1.000 cm<sup>3</sup> foi posta em um balde de 5 L adicionando-se água de torneira. Após agitação para o destorroamento do solo e decantação por 30 segundos, a suspensão foi vertida sobre as peneiras de 40 e 200 mesh acopladas. As maiores partículas de solo, matéria orgânica e os cistos, ficaram retidos na segunda peneira (200 mesh), sendo recolhidos em um becker de 100 ml. Caulim foi adicionado na proporção de 3 gramas para cada 100ml agitando-se a suspensão com um bastão de vidro. A suspensão foi distribuída em tubos e centrifugada a 2.000 rpm por 5 min. O sobrenadante foi vertido na peneira de 200 mesh para recolher os cistos que não sedimentaram. Ao precipitado nos tubos, adicionou-se sacarose a 45%, ressuspendendo-o com um bastão de vidro. Os tubos foram novamente equilibrados e centrifugados a 2.000 rpm por 1 min. O sobrenadante foi vertido sobre peneira de 200 mesh e os cistos e fêmeas ali retidos, foram lavados e recolhidos em becker, descartando-se o sedimento, o qual não continham cistos.

Para a obtenção do inóculo (ovos), cistos e fêmeas foram triturados na peneira de 200 mesh acoplada a peneira de 400 mesh, sob água corrente, de forma que os ovos liberados das fêmeas e cistos passavam e ficavam retidos na peneira de 400 mesh. Os ovos foram recolhidos da peneira de 400 mesh procedendo-se a calibração do inóculo em câmara de Peters sob microscópio estereoscópico para posterior inoculação.

### **3.1.3 Inoculação de pitaia com *C. cacti* para estudo do ciclo de vida**

Após o período de enraizamento (30 dias) de mudas de pitaia (Figura 2), foram feitos dois orifícios no solo de cada vaso com a planta em uma profundidade de aproximadamente três centímetros, próximo ao colo da planta.

**Figura 2.** Mudas de pitaia vermelha (*Hylocereus* sp.) com 30 dias de enraizamento em casa de vegetação.



Fonte: Café, 2018.

No primeiro ensaio, foram empregadas 50 mudas de pitaia e cada uma delas foi inoculada com 1.000 ovos de *C. cacti*, distribuídos em dois orifícios no solo próximo ao colo.

No segundo ensaio, foram inoculadas 30 mudas de pitaia com 500 J2 do fitonematoide por planta, igualmente distribuídos em dois orifícios próximos do colo. Após a deposição do inóculo, nos dois casos, os orifícios foram preenchidos com o

próprio substrato.

### **3.1.4 Acompanhamento do ciclo**

No primeiro ensaio, a cada três dias, duas mudas de pitaias escolhidas aleatoriamente foram levadas ao Laboratório de Fitopatologia para a retirada das raízes. Em seguida, os sistemas radiculares foram divididos em duas metades, devidamente pesadas. Uma metade foi submetida a coloração com finalidade de observação das fases de desenvolvimento do patógeno em microscópio e com a outra metade foi realizada a extração do nematoide para também constatar as fases presentes.

Para a coloração das raízes, empregou-se uma adaptação do método desenvolvido em 1983 por Byrd, Kikpatrick e Barker (FREITAS, NEVES e OLIVEIRA, 2007). Metade das duas raízes foram lavadas e individualmente passadas por um processo de clarificação, que consiste em imergi-las em uma solução com 50 mL de água e 30mL de hipoclorito de sódio em um becker. Este foi levado a um aquecedor e agitador magnético modelo MA085, da Marconi ®, sob constante agitação por seis minutos. Na sequência, cada raiz clarificada foi novamente lavada em água corrente para a retirada do NaClO para que, em seguida, fosse levada para um becker com água destilada por 15 minutos. Posteriormente, foi realizada a etapa de coloração, em que cada metade de raiz foi colocada em um becker contendo uma solução preparada com 30 mL de água e 1 mL de fucsina ácida concentrada (0,35 g de fucsina ácida, 25 ml de ácido acético glacial e 75 ml de água destilada). Esta solução corante com as raízes foi submetida ao calor em agitador aquecedor magnético até a fervura por dois minutos. As raízes foram retiradas do corante, postas sobre uma placa de Petri para resfriar à temperatura ambiente e então novamente lavadas com água corrente para a remoção do excesso de corante. A última fase consistiu em alocar as raízes em uma solução de 30 mL de glicerina com 200 µL de ácido clorídrico e novamente aquecê-las sobre o agitador aquecedor magnético até que a glicerina atingisse cerca de 80°C. Em seguida, as raízes foram retiradas da glicerina acidificada e resfriadas à temperatura ambiente.

Uma vez coradas, as raízes foram seccionadas e colocadas entre duas lâminas finas pressionando-as, empregando-se pelo menos 50 pares de lâminas para cada metade de raiz examinada. Os pares de lâminas foram levadas ao

microscópio ótico para observação e registro das fases do nematoide presentes nas raízes de pitaia, associando-se as fases observadas ao tempo de inoculação.

As outras metades das duas raízes foram submetidas ao método de extração de Coolen e D'Herde já descrito anteriormente. As fases obtidas foram igualmente registradas sob microscópio ótico.

Esse procedimento foi repetido para as plantas de pitaia em intervalos de três dias até que nas avaliações fossem constatadas fêmeas com ovos, ou seja, quando o ciclo de vida fosse completado. O tempo para a formação do cisto também foi registrado.

No segundo ensaio, mudas de pitaia já enraizadas foram inoculadas com 500 J2 ao invés de ovos, para maior uniformização da penetração de juvenis. Três dias após a inoculação dos J2, as mudas foram retiradas dos vasos, as raízes lavadas e transplantadas para novos vasos com capacidade de 1L contendo solo autoclavado. As avaliações começaram aos três dias após o transplante, ou seja, seis dias após a inoculação, e prosseguiu da mesma forma descrita anteriormente. O procedimento também foi repetido em intervalos de três dias até que fossem constatadas fêmeas com ovos e cistos, ou seja, quando o ciclo de vida fosse completado. Neste segundo ensaio, foi realizada a quantificação das fases do nematoide de cada avaliação como também do tempo do surgimento de cada uma das fases.

### **3.2 Capacidade de multiplicação de *Cactodera cacti* em pitaia pela contagem de ovos e J2 por cisto**

O ensaio foi realizado no período de março a abril de 2019. As pitaias do gênero *Hylocereus* utilizadas nesse experimento foram inoculadas com 500 J2 e mantidas em casa de vegetação por 45 dias. Ao final desse período, seis vasos foram levados ao Laboratório de Fitopatologia para que fossem realizadas extrações de cistos das raízes e do solo pelos métodos de Coolen e D'Herde e do CS, respectivamente, já descritos anteriormente. Para a contagem de ovos e de J2, foram utilizados 70 cistos com coloração de bege claro a marrom, os quais surgiram 24 a 30 dias após inoculação. A suspensão obtida foi vertida em placa de Petri (Figura 3) e os cistos individualmente transferidos e abertos em câmara de Peters empregando um estilete para a liberação dos indivíduos (Figura 4). A contagem de

ovos e de J2 por cisto foi realizada sob microscópio estereoscópio.

**Figura 3.** Suspensão de fêmeas e cistos obtida após extração em placa de Petri de onde foram retirados cistos de cor bege, pardo e marrom claro (setas) para contagem de ovos e juvenis.



Fonte: Café, 2019.

**Figura 4.** Cisto de 28 dias após a inoculação, aberto para contagem do número de ovos e J2 em câmara de Peters.



Fonte: Café, 2019.

### 3.3 Determinação do tempo para formação e eclosão de juvenis *in vitro*

A avaliação para a determinação do tempo de formação e eclosão de juvenis *in vitro* foi realizada em três ensaios, A, B e C.

No ensaio A, 221 ovos unicelulares de *C. cacti* foram distribuídos em sete placas de Petri de 3,5 cm de diâmetro contendo 3 ml de água destilada e fervida para observação da formação e eclosão de J2. Diariamente os ovos foram observados sob microscópio ótico e registrado o desenvolvimento dos juvenis como também a sua eclosão, por um período total de 18 dias. Os dados foram tabulados de forma a se observar com quantos dias os J2 eram formados e em quantos dias eclodiam. Ovos em que não houve o desenvolvimento dos juvenis também foram contados.

No Ensaio B, 134 ovos com juvenil de *C. cacti* já formado, foram distribuídos em quatro placas de Petri de 3,5 cm de diâmetro contendo, em duas delas, 3ml de água destilada e fervida e, nas outras duas, 3 ml de água mineral. Diariamente os ovos foram observados sob microscópio ótico e registrado a eclosão dos J2, por um período total de 18 dias. Ovos em que não ocorria a eclosão dos indivíduos foi igualmente considerado para efeito de contagem.

No ensaio C, nove ovos unicelulares foram alocados em uma placa de Petri de 3,5 cm de diâmetro contendo 3ml de água destilada e fixada em microscópio ótico em um mesmo campo visual sob a objetiva de 10X, com a finalidade de acompanhar o desenvolvimento diário dos mesmos indivíduos durante duas semanas. As observações foram realizadas diariamente e sempre no mesmo horário.

Os três ensaios foram realizados nos meses de outubro 2018 a fevereiro de 2019 em temperatura média de  $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

### 3.4 Determinação do período de viabilidade dos cistos no solo

O ensaio para investigar a sobrevivência de cistos do *C. cacti*, ou seja, a ocorrência de infecção após um período sem hospedeiro (pousio) foi conduzido no intervalo de em outubro de 2018 a junho de 2019.

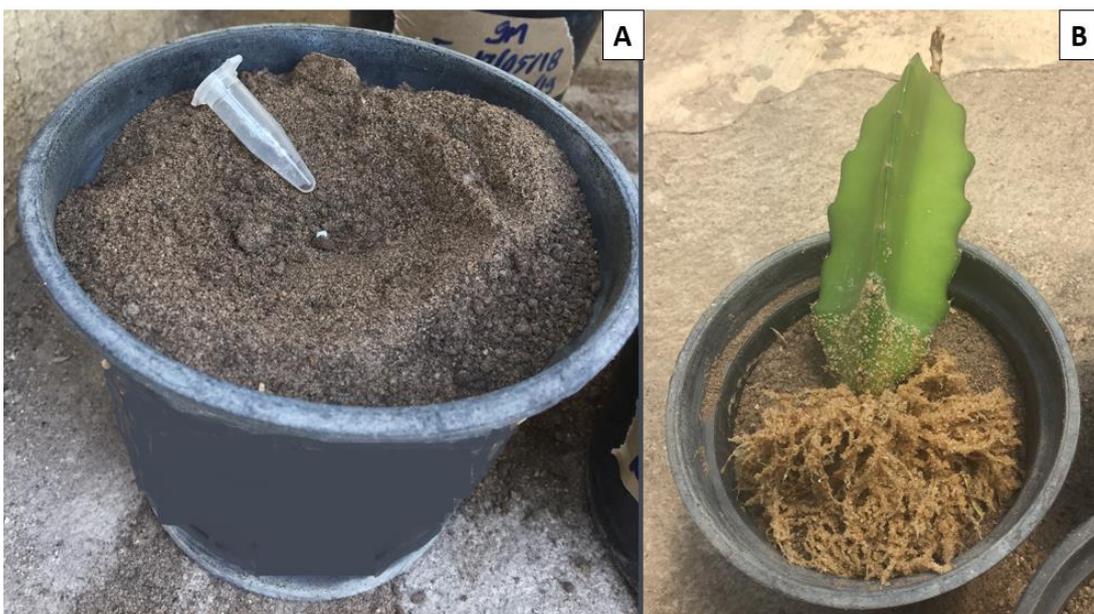
Em 30 vasos de 2 L de capacidade contendo solo (areia: esterco caprino, 2:1) peneirado e autoclavado a  $120^{\circ}\text{C}$  por 50 minutos, foram distribuídos 50 cistos

oriundos de pitaias do gênero *Hylocereus* extraídos pelo método de Coolen e D'Herde e pelo método CS. Os cistos, inicialmente armazenados em microtubos por 24 horas, foram colocados em vários pontos a uma profundidade de 3 cm. Os vasos permaneceram em casa de vegetação ( $31 \pm 3^\circ\text{C}$ ) sem planta hospedeira e sem irrigação por um período de 6 meses. (Figura 4).

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com seis tratamentos correspondentes a períodos sem hospedeira (30, 60, 90, 120, 150, 180 dias) e cinco repetições. Ao todo, durante o experimento, foram utilizados 1.500 cistos.

Após cada período de 30 dias, mudas enraizadas de pitiaia foram transplantadas, permanecendo nos vasos por 45 dias (Figura 5), quando foram iniciadas as avaliações. As variáveis analisadas para se constatar a viabilidade do inóculo após cada intervalo, foram o número de fêmeas e o de cistos presentes nas raízes da pitiaia e no solo. A extração de fêmeas e de cistos foi conforme descrito anteriormente para raízes e solo.

**Figura 5.** Detalhe do ensaio de determinação do período de viabilidade dos cistos no solo: A– Vaso com solo autoclavado onde foram depositados os 50 cistos de *C. cacti* alocados em um microtubo antes de serem depositados no solo. B– Pitiaia com 30 dias de enraizamento a ser plantada nos vasos com cistos, após cada tratamento (30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias após a infestação do solo).



Fonte: Café, 2019.

Os dados obtidos após a contagem do número de fêmeas e de cistos foram transformados em Log x na base 10 e analisados estatisticamente através dos testes F e Tukey a 5% de probabilidade com o auxílio do software SASM-Agri, a fim de verificar se houve diferença, com o passar do tempo, na população do nematoide após a permanência dos cistos em solo sem hospedeira.

Um ensaio foi conduzido com dois vasos, nos quais haviam sido cultivados palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* L.) por 60 dias em 2017. Após a remoção da cactácea, os vasos permaneceram sem plantas (pousio) por 26 meses em laboratório ( $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), com o objetivo de avaliar por quanto tempo os cistos de *C. cacti* presentes no solo seco estariam viáveis. Para avaliar a viabilidade de cistos presentes no solo, procedeu-se ao transplântio de mudas de pitaia com 30 dias de enraizadas e após 45 dias em casa de vegetação sob irrigação diária, as plantas foram retiradas e avaliadas quanto à presença de fêmeas e cistos, conforme ensaio anteriores.

### **3.5 Hospedabilidade de *Cactodera cacti***

O experimento foi realizado de agosto de 2018 a junho de 2019. Foram inoculadas mudas de espécies vegetais de seis famílias botânicas, sendo Apiaceae: coentro (*Coriandrum sativum* L.), salsa (*Petroselinum crispum* L.); Crassulaceae: kalanchoe (*Kalanchoe laetivirens* Descoings), Euphorbiaceae: coroa-de-cristo (*Euphorbia milli* Des Moulins); Lamiaceae: cóleus (*Solenostemon scutellarioides* L.) e manjerição (*Ocimum basilicum* L.); Solanaceae: tomate (*Solanum lycopersicum* L.) 'Carolina' e 'Santa Clara', pimenta-bico (*Capsicum chinense* L.) e pimenta cumari-do-Pará (*Capsicum baccatum* L.) e Cactaceae: pitaia amarela (*Selenicereus* sp.), flor-de-maio (*Schulumbergera truncata* Haw.) e mandacaru ornamental (*C. jamacaru* L.) que foram obtidas a partir de estacas, sementes e mudas.

As sementes das hortaliças e coentro, salsa, manjerição, tomate, pimenta-bico, pimenta cumari-do-Pará foram distribuídas em bandejas de polietileno com 128 células, contendo uma mistura de solo e esterco caprino, na proporção de 2:1, peneirada e autoclavada durante 50 minutos a  $120^{\circ}\text{C}$ . As mudas das hortaliças foram transplantadas quando estavam com dois pares de folhas para vasos de 1 L de capacidade contendo a mesma mistura autoclavada. As estacas de cóleus, kalanchoe, coroa-de-cristo, pitaia amarela e flor-de-maio, foram alocadas para

enraizamento por 10 a 30 dias em vasos com capacidade de 1 L contendo o mesmo substrato citado anteriormente. As mudas de mandacaru ornamental produzidas em substrato foram transplantadas para vasos de 0,5 L de capacidade. As bandejas e os vasos foram mantidos em casa de vegetação ( $31 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ) e regados duas vezes ao dia, uma no início da manhã e outra no fim da tarde.

O inóculo do nematoide foi obtido a partir de raízes infectadas de pitaia e do solo, empregando-se o método de Coolen e D'Herde e o método CS. Foram inoculados 2.000 ovos de *C. cacti* por planta, com seis repetições para cada espécie vegetal e mudas não inoculadas foram mantidas como controle negativo. Mudas de pitaia *Hylocereus* foram inoculadas no mesmo dia, como controle positivo.

As avaliações ocorreram 45 dias após a inoculação, quando as plantas foram levadas para o Laboratório de Fitopatologia para serem analisadas a fim de constatar se houve ou não infecção nas raízes.

Os resultados quanto à hospedabilidade das plantas ao *C. cacti* foram comparados com aqueles obtidos para a pitaia *Hylocereus* inoculada no mesmo dia, considerando o número de ovos e o fator de reprodução (FR), variável obtida a partir da divisão da população final pela população inicial. Para análise do comportamento das espécies considera-se: Imune (FR=0), Resistente (FR<1,0) e suscetível (FR>1,0) (OOSTENBRINK, 1966).

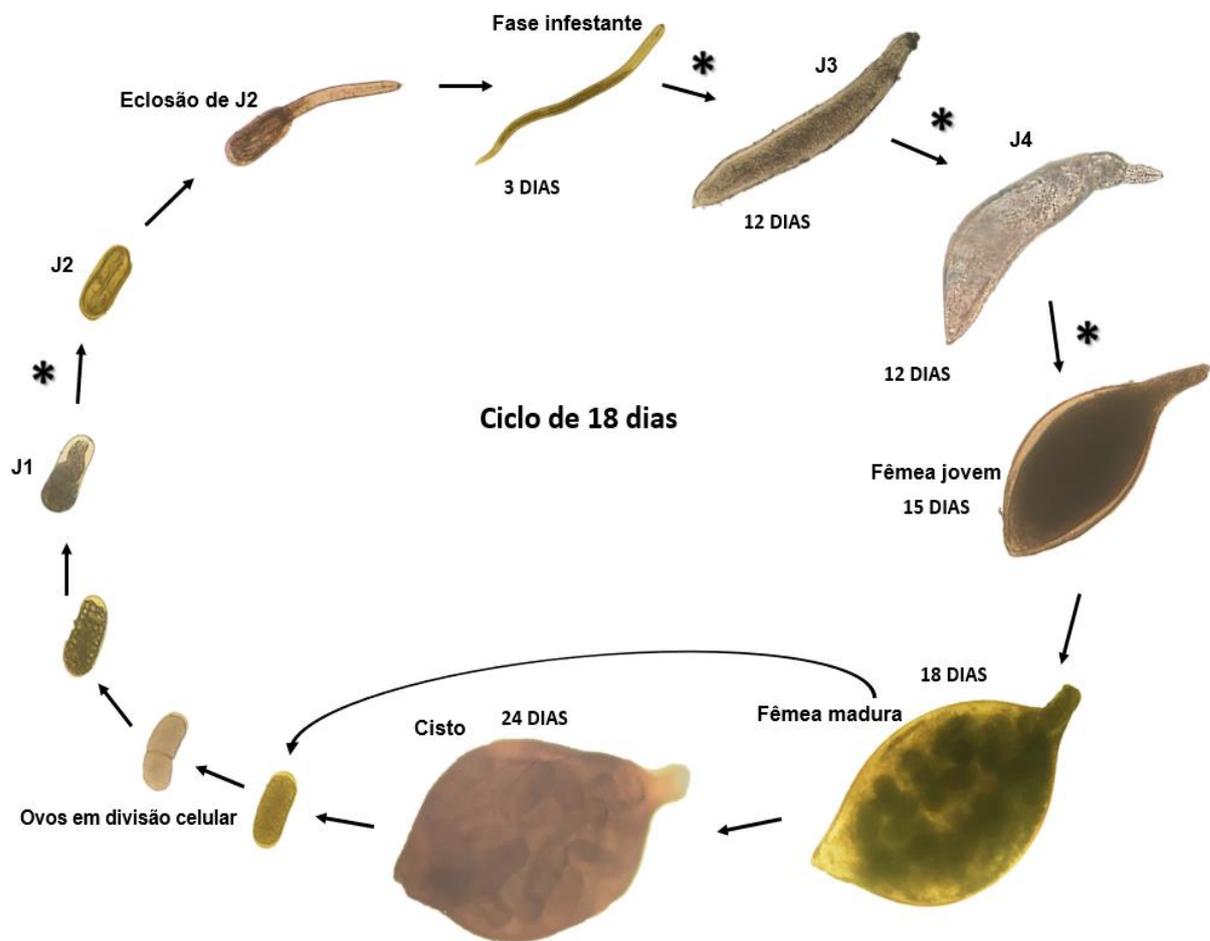
Os dados obtidos após a contagem do número de ovos nas hospedeiras foram analisados estatisticamente através dos testes F e Tukey a 1% de probabilidade com o auxílio do software SASM-Agri.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Ciclo de vida de *C. cacti* em *Hylocereus* sp.

No primeiro ensaio, em que foram inoculados 1.000 ovos de *C. cacti* por planta, o ciclo completo (de ovo a ovo) foi de 18 dias, com o aparecimento do cisto aos 24 dias da inoculação (Figura 6).

**Figura 6.** Ciclo de vida de *Cactodera cacti* em *Hylocereus* sp.



\*=Ecdises.

Fonte: Café, 2019.

Todos os estádios de desenvolvimento do fitopatógeno foram facilmente observados neste ensaio, excetuando o macho. As fases juvenis e as fêmeas de formato globoso a limoniforme, foram visualizadas dentro das raízes, caracterizando o nematoide como um endoparasita sedentário. Quando maduras, observou-se que

a região posterior de seu corpo estava exposta na raiz. Em estudos conduzidos com outra espécie de *Cactodera*, o *C. torreyanae*, Evans *et al.* (2015) verificaram que todas as fases do patógeno apresentavam o corpo externo às raízes, razão para ser considerado um ectoparasita sedentário. Além disso, os machos do *C. torreyanae* foram facilmente encontrados, diferindo do nematoide do cisto das cactáceas.

Constatou-se que J2 de *C. cacti* foram observados infectando raízes de pitaia em todas as oito as avaliações feitas ao microscópio ótico, já a partir de 3 dias da inoculação de ovos. Nesse ensaio, visualizaram-se J2 cilíndricos aos nove dias, e o surgimento dos juvenis de terceiro e quarto estágio aos 12 dias após a inoculação (DAI), ou seja, nove dias após a primeira observação do J2 na raiz. Fêmeas jovens, ainda sem ovos em seu interior, surgiram aos 15 DAI. Nessa ocasião o corpo se apresentava, em geral, oblongo. O tempo de desenvolvimento de J2 a fêmeas jovens foi de 12 dias. Considerou-se o encerramento do ciclo de vida a partir da visualização de fêmeas jovens com poucos ovos já presentes em seu interior o que ocorreu aos 18 dias (Figura 7). Com a continuidade da produção de ovos, o corpo da fêmea vai se tornando mais globoso e/ou limoniforme, típico do gênero. Cistos do heteroderídeo só foram detectados seis dias após o fim do ciclo (24 DAI).

**Figura 7.** Fêmea jovem de *C. cacti* com ovos observada aos 18 dias após a inoculação, sinalizando o fim do ciclo de vida do fitonematoide em pitaia.



Fonte: Café, 2019.

Há pouco relatos sobre ciclo de vida dentro de gênero *Cactodera*, não sendo encontrada nenhuma referência para estudos quanto à duração do ciclo de vida de *C. cacti*. O tempo de desenvolvimento de J2 a fêmea corrobora as informações obtidas no estudo de Cordero, Baldwin e Mundo-Ocampo (1991). Estes autores, em um trabalho que buscava avaliar o desenvolvimento do cone vulvar das fêmeas de *C. cacti*, observaram o período de 12 dias decorrido de J2 a fêmea. No mesmo estudo, foi constatado que a terceira e quarta ecdise ocorreram com um intervalo de três a quatro dias, também corroborando informações deste trabalho.

Evans *et al.* (2015), estudando o ciclo de vida de *C. torreyanae* em uma chenopodiácea, *Suaeda edulis*, em campo, observaram o fechamento do ciclo aos 25 dias em ambiente com temperatura média de 20°C. Esse nematoide foi descrito em 2014 e pouco se conhecia sobre a sua biologia

Entre os heteroderídeos, os principais gêneros de nematoides formadores de cisto, o *Heterodera*, completa seu ciclo biológico (ovo a ovo) entre 21 e 28 dias (BALDWIN e MUNDO-OCAMPO, 1991; FERRAZ e BROWN, 2016). Tihohod (1993) afirma que o ciclo de vida de *H. glycines* varia de 21 a 24 dias à temperatura de 23 a 25°C. Cunha *et al.* (2008) avaliando o ciclo biológico de *H. glycines* à temperatura média de 28,7°C, afirmou que o fechamento do ciclo ocorreu aos 29 dias, sendo possível de três a quatro gerações durante o ciclo da soja naquela região.

Em comparação com o tempo obtido neste estudo, pode-se constatar que o nematoide do cisto das cactáceas completa seu ciclo em um tempo de até dez dias a menos do que outros heteroderídeos. Com isso, a multiplicação de *C. cacti* pode ser muito maior em pitaia em condições de campo, tendo em vista que em um ano pode ocorrer, em condições favoráveis, até 20 ciclos desse fitonematoide. Esse número supera em sete a quantidade de ciclos que as principais espécies do gênero *Heterodera* podem completar em suas hospedeiras no mesmo tempo.

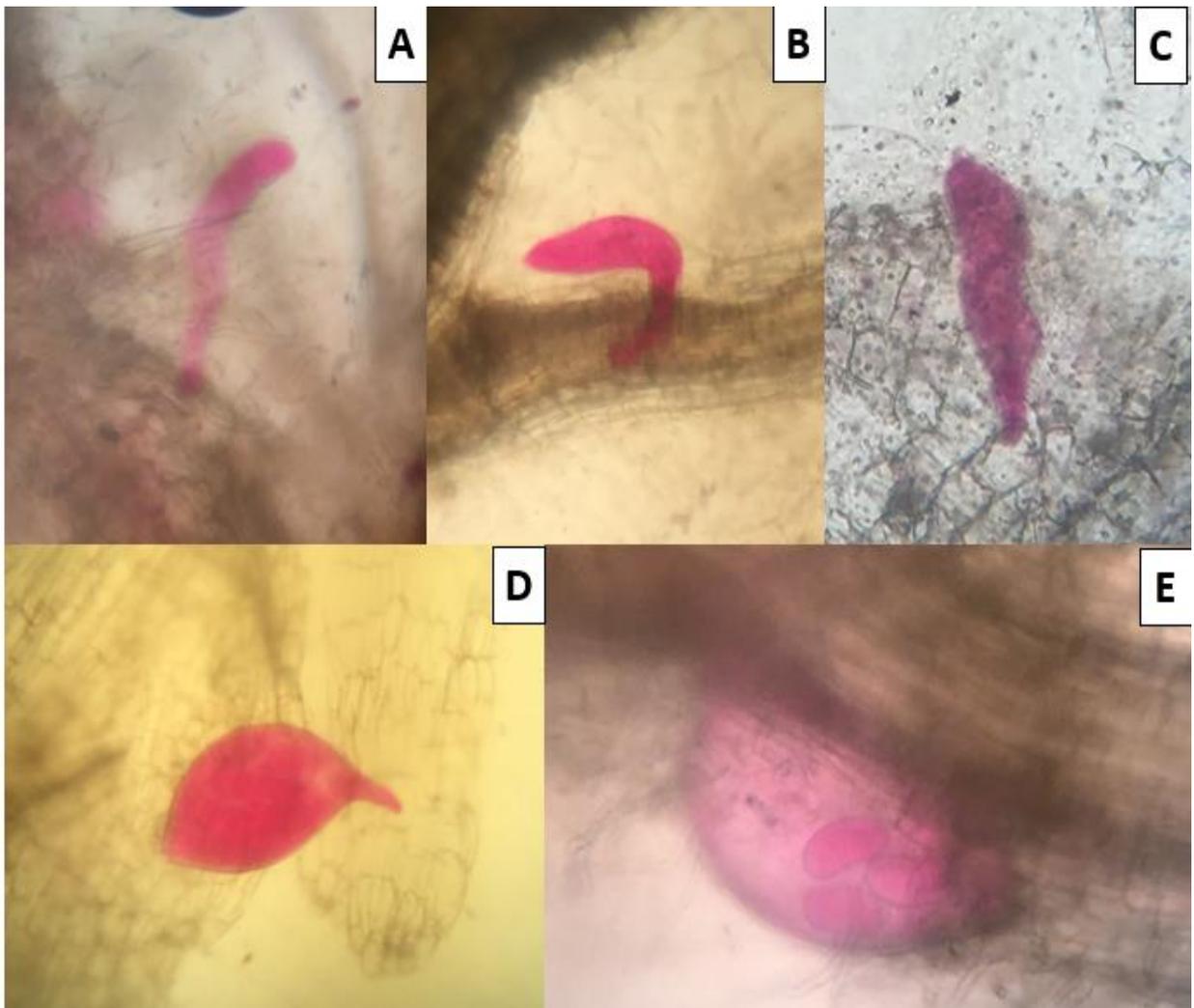
No segundo ensaio, em que foram inoculados 500 J2 por planta, foi realizada a quantificação das fases do nematoide do cisto das cactáceas, a cada três dias após a inoculação. A duração do ciclo e do aparecimento de cistos foi a mesma obtida no primeiro ensaio, confirmando assim o tempo de ciclo da *C. cacti* em pitaia sob condições ambientais de casa de vegetação (31 ± 3°C) de 18 dias e do aparecimento de cistos aos 24 dias após a inoculação.

Assim como no primeiro ensaio, constatou-se que J2 de *C. cacti* estavam presentes nas raízes de pitaia em todas as cinco avaliações feitas ao microscópio

ótico, a partir de seis dias da inoculação. Aos nove dias, verificou-se igualmente a presença de J2 cilíndricos na raiz. Os J3 e J4 foram também observados a partir do 12º dia, como também o surgimento de fêmeas constatado ao 15º dia do ciclo de vida.

As fases juvenis e fêmeas foram extraídas das raízes pelo método de Coolen e D'Herde (1972) como também observadas nas raízes coradas de pitaia (Figura 8) (Tabela 1).

**Figura 8.** Estádios de desenvolvimento de *C. cacti* em *Hylocereus* sp. após o método de coloração com fucsina ácida. A - J2 cilíndrico aos 9 dias após a inoculação (DAI); B - J3 aos 12 DAI; C - J4 aos 12 DAI; D - Fêmea jovem sem ovos aos 15 DAI; E - Fêmea com ovos aos 18 DAI.



Fonte: Café, 2019.

**Tabela 1.** Quantificação dos estádios de desenvolvimento de *C. cacti* em pitaiá durante o acompanhamento de seu ciclo de vida após extração de nematoides de raiz e após coloração de nematoides na raiz com fucsina ácida.

Tempo de avaliação	Estádio de desenvolvimento	Número de indivíduos após extração	Número de indivíduos após coloração	Total
6 DAI	J2	9	2	11
	J3	0	0	0
	J4	0	0	0
	Fêmea	0	0	0
9 DAI	J2	12	2	14
	J3	0	0	0
	J4	0	0	0
	Fêmea	0	0	0
12 DAI	J2	4	1	5
	J3	10	2	12
	J4	6	2	8
	Fêmea	0	0	0
15 DAI	J2	3	1	4
	J3	6	2	8
	J4	5	1	6
	Fêmea	3	1	4
18 DAI	J2	2	0	2
	J3	4	2	6
	J4	8	1	9
	Fêmea	6	3	9
24 DAI	Cisto	5	*	5

\*Na última avaliação após o fechamento do ciclo não foi realizado o método de coloração com fucsina ácida.

Observou-se que em todas as extrações o número de indivíduos encontrados nas raízes, considerando a extração e coloração, foi sempre inferior a 15, sugerindo que um estudo como este não seja realizado com menos de 500 juvenis. Constatou-se também que o número de indivíduos contados a partir da

extração do nematoide da raiz foi sempre superior ao número observado nas raízes coradas, o que pode significar perdas durante o processo de aquecimento para a coloração do nematoide em raiz de pitáia.

A observação de J2 em todas as avaliações, ou seja do 6º ao 18º dia, sugere que parte dos juvenis após penetrar na raiz, não se desenvolva, resultando em menor número de indivíduos das fases seguintes. Considerando os dados da Tabela 1, cerca de 36% dos J2 que penetraram alcançariam a fase adulta.

Em geral, não há relatos sobre o percentual de juvenis de fitonematoides que consegue penetrar nas raízes de plantas hospedeiras. Acredita-se que este número varia com o fitonematoide, a hospedeira e o ambiente. Neste trabalho, constatou-se que o percentual de J2 que penetrou em raízes de pitáia, contabilizados pelos métodos da extração e coloração, variou de 1,1% a 2,6% por planta, ressaltando-se que os 500 juvenis foram inoculados bem próximos à raiz e que a planta ficou no vaso por três dias. Ao ser considerado apenas o resultado obtido a partir da extração, e calculando-se para a raiz inteira, o percentual ainda seria baixo, com variação de 1,8 a 4%.

Considerando o tempo de 18 dias para o ciclo de vida completo de *C. cacti* em pitáia e, tendo em vista que essa cactácea frutífera é uma planta perene, boa hospedeira do patógeno, com expectativa de produção por mais de 15 anos (MOREIRA *et al.*, 2012), é possível supor que em uma área infestada, e caso a planta tolere a infecção por todo o período, ocorreria pelo menos 300 ciclos de vida do patógeno na mesma planta hospedeira.

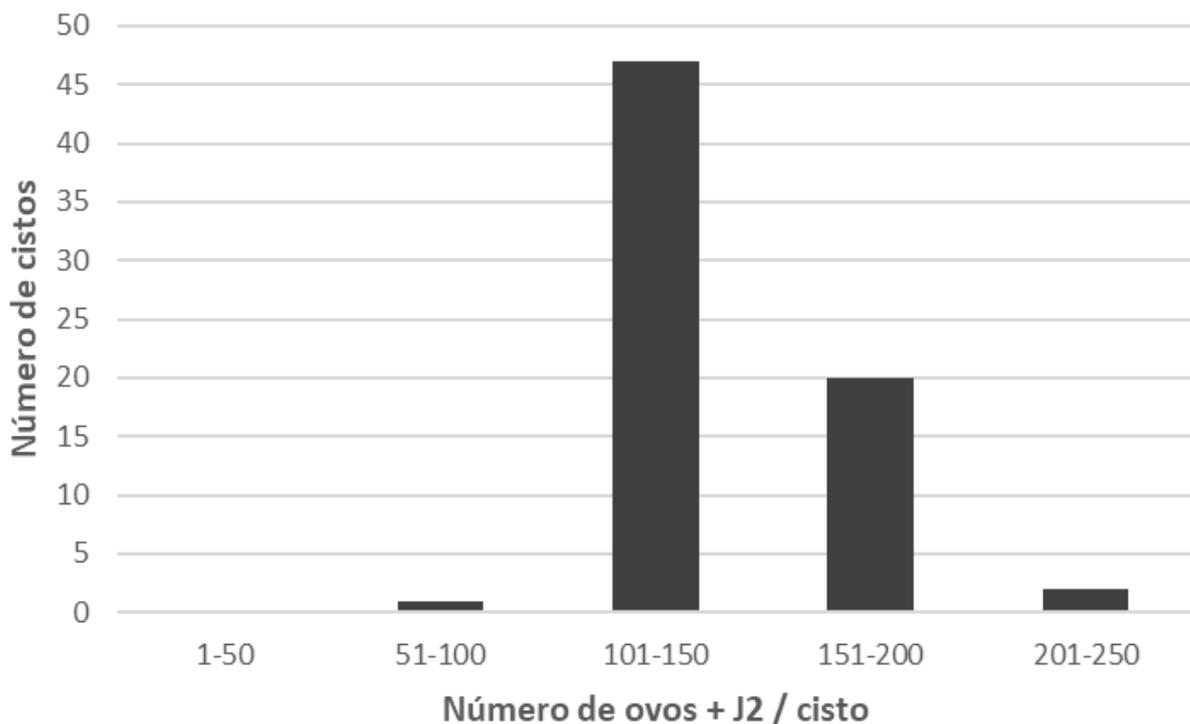
Adicionalmente ao estudo do ciclo de vida de *C. cacti*, foi realizada a caracterização morfométrica de cistos e J2 do nematoide. Verificou-se que os cistos possuíam comprimento do corpo excluindo o “pescoço” de 354,92 a 727,57 µm com média de 555,85 µm, largura corporal de 297,89 a 553,66 µm com média de 392,11 µm e relação comprimento e largura de 1,04 a 1,78, com média de 1,42. Os J2 possuíam comprimento corporal de 452,75 a 551,51 µm, com média de 511,21 µm, largura corporal de 21,16 a 29,43 µm, com média de 24,64 µm e tamanho de estilete de 25,40 a 34,02 µm, com média de 28,01 µm. Os ovos com juvenil formado apresentavam aspecto rugoso característico da espécie *C. cacti*.

## 4.2 Capacidade de multiplicação de *Cactodera cacti* em pitaia pela contagem de ovos e J2 por cisto

Dos 70 cistos avaliados, foi observado o número médio de 142,17 indivíduos (ovos e J2) por cisto, com máximo de 232 e mínimo de 91 indivíduos. Ressalta-se que nos cistos de *C. cacti* são encontrados ovos em diferentes fases, ovos com J1 e J2 e diversos J2 após a eclosão. Constatou-se que o número médio de J2 após a eclosão e antes de emergir do cisto foi de 31,2, com máximo de 64 e mínimo de seis J2, independentemente do número de ovos ter sido alto ou baixo.

De acordo com o Gráfico 1, pode-se observar que os cistos possuem sempre acima de 90 indivíduos, ou seja, quando a fêmea se torna cisto, já produziu no mínimo 90 ovos. Houve uma maior frequência de cistos contendo de 101 a 150 indivíduos (47 cistos) seguido do intervalo de 151 a 200 ovos e J2 (20 cistos). Igualmente foram mais raros cistos contendo mais de 200 ovos e J2 (2 cistos) ou menos de 100 indivíduos (1 cisto).

**Gráfico 1.** Número de cistos por intervalo de 50 indivíduos (ovos e juvenis de segundo estágio) de *C. cacti*.



Fonte: Café, 2019.

Algumas espécies formadoras de cisto como, *H. glycines*, *H. avenae*, *G. rostochiensis* e *G. pallida*, que são consideradas de grande importância agrônômica, possuem como característica o fato de suas fêmeas inicialmente produzir e liberar cerca de 10 a 20% do total de ovos numa matriz gelatinosa externa a seu corpo. Em seguida, passam a reter o restante dos ovos, número esse que pode chegar a 600 (FERRAZ e BROWN, 2016). Já *C. cacti* não libera os ovos produzidos, tendo em vista o fato de a abertura de sua vulva ser diminuta e ainda possuir dentículos (CORDERO, BALDWIN e MUNDO-OCAMPO, 1991). Além disso, ressalta-se o fato do tamanho dos cistos de *C. cacti* ser menor que os de *H. glycines*. O nematoide do cisto das cactáceas possui comprimento médio do corpo de 524,9 µm, largura média de 383,4 µm (DUAN, WANG e CHEN, 2012), enquanto o nematoide do cisto da soja possui comprimento médio do corpo de 696,0 µm e largura média de 399,8 µm (WANG *et al.*, 2017. Segundo Ferraz e Brown (2016), os fitonematoides em geral depositam ovos com proporções de 50 a 100 µm de comprimento por 20 a 50 µm de largura, não variando com a dimensão dos adultos que os produziram. Desta forma, sugere-se que cistos de *H. glycines* retêm mais ovos (400-600 ovos) (FERRAZ e BROWN, 2016) que o *C. cacti*, o qual no presente trabalho variou de 91 a 232.

No gênero *Meloidogyne*, o número de ovos que suas fêmeas podem depositar em uma massa gelatinosa pode chegar a 2.000 (FERRAZ e BROWN, 2016; TIHOHOD, 1993). Em comparação com a média do número de ovos obtida neste trabalho para *C. cacti*, os nematoides das galhas podem depositar um número de ovos 14 vezes maior que o número de ovos produzidos pelo nematoide do cisto das cactáceas.

Fêmeas de *Rotylenchulus reniformis* (nematoide reniforme) e de *Tylenchulus semipenetrans* (nematoide dos citros), duas espécies de fitonematoides ectoparasitas sedentárias presentes no Brasil, produzem e depositam em uma matriz gelatinosa ao redor de seu corpo cerca de 100 ovos apenas (FERRAZ e BROWN, 2016). Na família Pratylenchidae, as fêmeas endoparasitas migradoras dos gêneros *Pratylenchus* e *Radopholus* depositam de 70 a 120 ovos e 50 a 70 ovos, respectivamente, no interior das raízes e no solo (FERRAZ e BROWN, 2016; TIHOHOD, 1993). Estes valores se mostram levemente inferiores ao obtido neste trabalho para *C. cacti*.

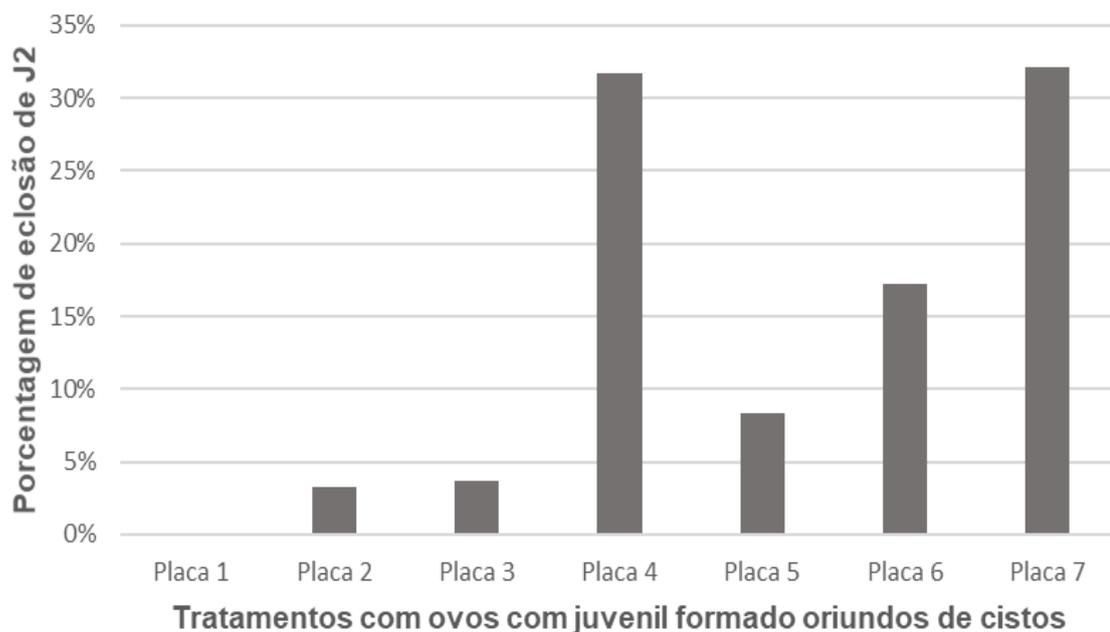
Com isso, pode-se afirmar que o nematoide do cisto das cactáceas, *C. cacti*, produz em pitaita com 45 dias após a inoculação, um número de ovos superior

aos dos gêneros *Rotylenchulus*, *Tylenchulus*, *Pratylenchus* e *Radopholus*, sugerindo assim que, considerando apenas o número de ovos, o nematoide do cisto das cactáceas possui uma maior capacidade de multiplicação em campo que os gêneros citados. Com relação aos gêneros *Heterodera*, *Globodera* e *Meloidogyne*, o *C. cacti* produz um número de ovos inferior ao dos principais gêneros formadores de cistos (400-600 ovos) e ao do nematoide das galhas (200-2.000 ovos).

#### 4.3 Determinação do tempo para formação e eclosão de juvenis *in vitro*

No ensaio A, em que 221 ovos unicelulares oriundos de fêmeas foram distribuídos em sete placas de Petri contendo 3 ml de água destilada e fervida (ADeF), as porcentagens de J2 que eclodiram a partir de ovos unicelulares variaram de 0,00% na placa 1 a 32,14% na placa 7, conforme o Gráfico 2. O percentual médio de eclosão nesse ensaio foi de 13,76% durante os 18 dias de avaliação.

**Gráfico 2.** Porcentagens de eclosão de juvenis de segundo estágio oriundos de ovos unicelulares obtidos de fêmeas de *C. cacti* em água destilada e fervida.

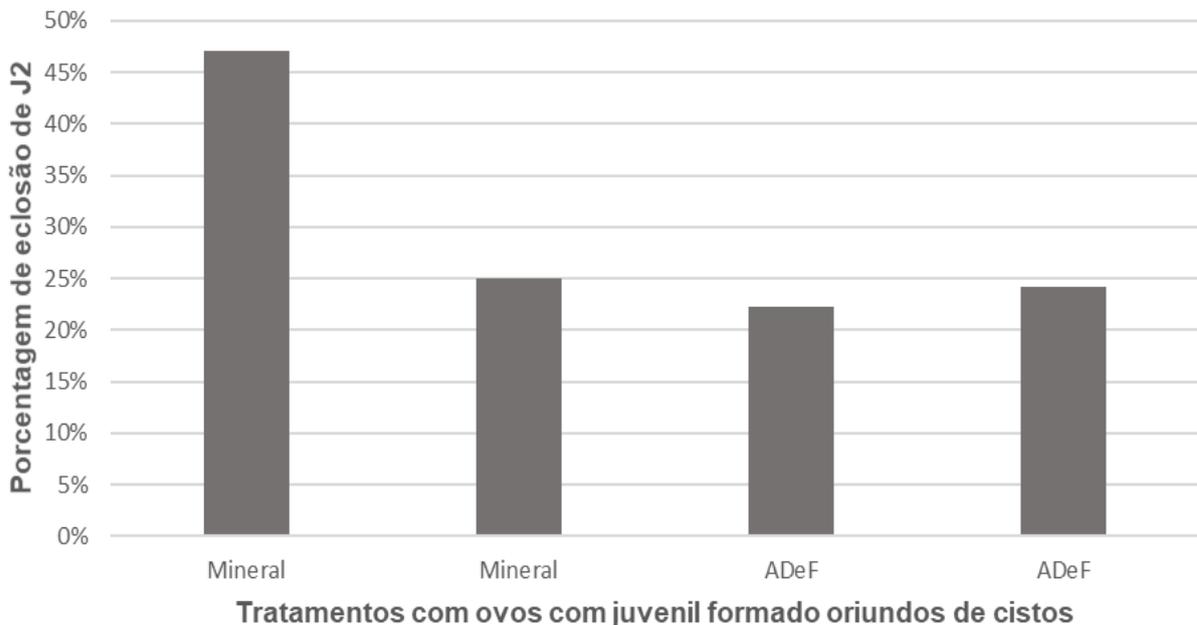


Fonte: Café, 2019.

No ensaio B, dos 134 ovos no geral avaliados, o percentual de eclosão de J2 em água mineral foi de 47,06% na primeira placa e de 25,00% na segunda placa de Petri, com percentual médio de eclosão de 36,03% nesse tratamento. Em água

destilada e fervida, as porcentagens de eclosão de J2 foram de 22,22% e 24,24% (Gráfico 3). O percentual médio de eclosão nesse tratamento (ADeF) foi de 23,23% durante as duas semanas de avaliação. A média do tratamento com água mineral superou em 12,80% a média do tratamento realizado em água destilada e fervida, no entanto não houve análise estatística para confirmar a aparente superioridade. Essa avaliação permitiu verificar que na ausência de água destilada é possível conduzir ensaios *in vitro* com água mineral.

**Gráfico 3.** Porcentagens de eclosão de juvenis de segundo estágio de *C. cacti* oriundos de ovos com indivíduo já formado obtidos de cistos e mantidos em água mineral e água destilada e fervida.

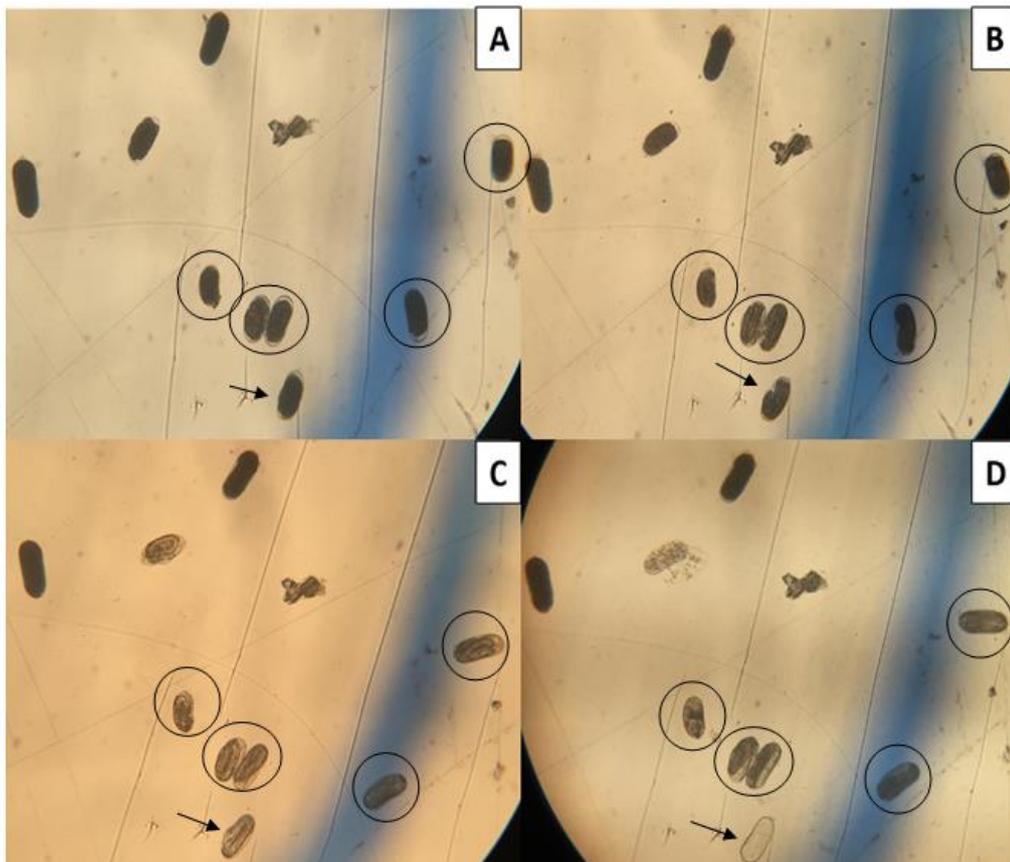


Fonte: Café, 2019.

No ensaio C, em que nove ovos foram colocados em placa de Petri com ADeF, com observação e registros diários, houve eclosão de apenas um indivíduo. Todos os ovos permaneceram na placa fixa sob a objetiva de 10X em microscópio ótico durante as duas semanas de avaliação. Pode-se constatar também que, a partir de observações do único indivíduo que eclodiu, o surgimento do juvenil de primeiro estágio ocorreu no 4º dia de avaliação e o desenvolvimento do juvenil de segundo estágio no 8º dia de observação. A eclosão do J2 ocorrida nesse experimento aconteceu no 11º dia de avaliação (Figura 9, setas). Ressalta-se que em um total de cinco dentre os nove ovos ocorreu a formação de J2 que, no entanto,

estagnaram e, conseqüentemente, não houve nenhuma outra eclosão na continuação do experimento (Figura 9, círculos). Os ovos utilizados nesse experimento eram unicelulares oriundos de fêmeas de *C. cacti*. Considera-se ainda que essa estagnação do J2 ocorra frequentemente com nematoides fitopatogênicos, tendo em vista que nas inoculações em que se empregam numerosos ovos, a quantidade de juvenis que penetra, em geral é inferior ao de ovos inoculados.

**Figura 9.** Nove ovos unicelulares de *C. cacti* mantidos em placa de Petri com água sob microscópio ótico: A- 1º dia; B- 4º dia; C- 8º dia; D- 11º dia (setas).



Fonte: Café, 2018.

Baldwin e Mundo-Ocampo (1991) relataram que J2 oriundos de cistos de *H. carotae* que tenham menos de dois meses de idade dificilmente eclodem. Contudo, relatam que os J2 presentes em cistos maduros eclodem quando a temperatura e a umidade do solo estiverem adequadas.

Perry (1989), Tihohod (1993) e Zunke e Eisenback (1998) afirmaram que a maioria juvenis do nematoide do cisto da batata, *G. rostochiensis*, geralmente eclodem em resposta aos exsudatos emitidos pelas hospedeiras solanáceas e na

presença de solução aquosa de alguns compostos químicos específicos e que apenas 2% dos juvenis eclodem quando colocados somente em água.

A eclosão J2 de ovos em cistos nas espécies de nematoides do cisto da batata, *G. rostochiensis* e *G. pallida*, é iniciada pela exposição dos ovos a exsudatos da hospedeira. Nessas espécies, a eclosão envolve uma mudança na permeabilidade relacionada com o cálcio das membranas lipoproteicas internas da camada lipídica que envolve o ovo. A umidade junto a mudança do ovo de um estado semipermeável para permeável, reidrata e ativa o J2, que permite ao juvenil abrir caminho para fora do ovo (PERRY, 1989).

Charles e Venkitesan (1995), estudando a biologia de *H. oryzae* em bananeira, observaram que ovos unicelulares se desenvolveram formando o J1 após quatro dias e os J2 eclodiram do ovo após seis dias de desenvolvimento do primeiro estágio juvenil. Jayaprakash e Rao (1982) constataram, também em *H. oryzae*, eclosões de J2 em um tempo de oito a nove dias a partir de ovos em matriz gelatinosa. Em *H. zaeae*, o desenvolvimento dos J2 acontece por volta de oito dias a partir de ovos unicelulares e a eclosão dos juvenis ocorre dois dias após sua formação (HUTZELL e KRUSBERG, 1990). Lauritis, Rebois e Graney (1983) em estudos com *H. glycines*, determinou a formação de J1 cinco dias após a deposição de ovos pela fêmea, o desenvolvimento do J2 dois dias depois e a eclosão dois dias mais tarde. Esses dados são semelhantes aos obtidos neste trabalho para *C. cacti*, tendo em vista que o J1 foi formado aos quatro dias, o J2 depois de mais quatro dias e sua eclosão ocorreu três dias após sua formação.

Em *P. coffeae*, o J1 surge oito dias após a deposição do ovo pela fêmea. Seis dias mais tarde, ocorre a primeira ecdise surgindo assim o J2 (TIHOHOD, 1993). Os dados obtidos mostram que a formação de J1 e J2 de *C. cacti* pode ocorrer mais rapidamente que nessa espécie de nematoide das lesões radiculares.

De acordo com Ferraz e Brown (2016), no gênero *Meloidogyne*, por exemplo, quando os ovos estão sob condições favoráveis de temperatura, de umidade, de oxigênio e havendo uma hospedeira, a eclosão dos juvenis se dá sem a necessidade de qualquer estímulo externo. Contudo, nas espécies *M. incognita*, *M. javanica* e *M. hapla*, quando seus ovos são expostos a exsudatos radiculares, ocorre um aumento de eclosões de J2 (TIHOHOD, 1993).

Entre alguns nematoides formadores de cisto, estímulos específicos são extremamente necessários para que os juvenis saiam da dormência e eclodam. São

exemplos de espécies de heteroderídeos que necessitam de algum estímulo externo *H. cruciferae* e *H. carotae*, enquanto *H. schachtii* e *H. glycines* não necessitam de estímulos para que seus juvenis eclodam (BALDWIN e MUNDO-OCAMPO, 1991; FERRAZ e BROWN, 2016). Esses estímulos ocorrem principalmente através de exsudatos radiculares ativos produzidos e liberados por plantas hospedeiras durante o período de crescimento das raízes, que ocorre na maior parte entre três e seis semanas de vida da planta (TIHOHOD, 1993).

Em *H. cruciferae*, a eclosão dos juvenis a partir de ovos em cisto é estimulada quando há exsudatos de *Brassica* spp. difusos no solo, entretanto exsudatos de outras hospedeiras não estimulam a eclosão dos J2. Em *H. carotae*, os J2 presentes na matriz gelatinosa expelida pela fêmea, eclodem rapidamente se exsudatos de raízes de cenouras jovens estiverem presentes, se a umidade do solo for adequada e se a temperatura do solo estiver entre 15 e 20°C. A eclosão dos J2 ocorre até a temperatura mínima de 5°C, mas não ocorre em temperaturas acima de 25°C. Curiosamente nesta espécie, ovos retidos em cistos jovens não são afetados pelos exsudatos liberados pelo hospedeiro (BALDWIN e MUNDO-OCAMPO, 1991).

Outro fator que pode influenciar a eclosão de juvenis de heteroderídeos é a sazonalidade. Tihohod (1993) afirmou que, em estudo com *Heterodera* spp., devido à formação de cistos, os juvenis não eclodem *in vitro* em determinadas épocas do ano, ainda que todos os fatores necessários à eclosão sejam adequados.

Em *Meloidogyne*, a eclosão dos J2, sob condições ambientais adequadas de temperatura, de umidade e de oxigênio, a saída dos juvenis dos ovos ocorre sem a necessidade de estímulos externos (FERRAZ e BROWN, 2016). Perry (1989) afirmou que *M. javanica* não necessita de exsudatos radiculares para iniciar o processo de eclosão dos J2. Constatou-se que um tipo de tecido nervoso subjacente a uma área de cutícula modificada pode desencadear a síntese de enzimas nas glândulas do esofagianas causando hidrólise da camada lipídica do ovo. Logo, o ovo torna-se flexível e distorce em resposta aos movimentos do juvenil.

Não há estudos indicando como se dá a eclosão de J2 nas espécies do gênero *Cactodera*, contudo, devido ao baixo percentual de eclosão neste ensaio, admite-se que a *C. cacti*, assim como *H. cruciferae*, *H. carotae*, *G. rostochiensis* e *G. pallida*, necessita de algum estímulo da planta hospedeira e, ou do ambiente para que haja uma maior taxa de eclosão de seus juvenis. Há a necessidade de novos estudos em que ovos de *C. cacti* sejam colocados em contato com exsudatos

radiculares de uma planta hospedeira a fim de verificar se há ou não uma maior taxa de eclosão de juvenis.

#### 4.4 Determinação do período de viabilidade dos cistos no solo

Os heteroderídeos formadores de cistos, como o *C. cacti*, possuem uma característica de manter ovos viáveis por anos dentro dessas estruturas de resistência (CARES e BALDWIN, 1995). Com isso, foi testada a viabilidade de 50 cistos do *C. cacti* em solo autoclavado durante os tempos de 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias sem hospedeira (pousio).

Não houve diferença estatística entre os tratamentos pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. As médias do número de cistos por tratamento que foram formados nas raízes de pitaia após 45 dias do transplântio foram bem próximas variando de 2.033 cistos, no tratamento em que houve o transplântio de pitaia 150 dias após a infestação do solo, a 2.496 cistos, no tratamento onde houve o transplântio da cactácea 30 dias após a infestação do solo com 50 cistos de *C. cacti* (Tabela 2).

**Tabela 2.** Média do número de cistos obtido após os tempos de 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias após a infestação do solo com 50 cistos de *C. cacti* e 45 dias após o transplântio da pitaia.

Tratamentos	Média de cistos**
30 dias	2.496,0
60 dias	2.437,0
90 dias	2.322,0
120 dias	2.422,5
150 dias	2.033,0
180 dias	2.244,8

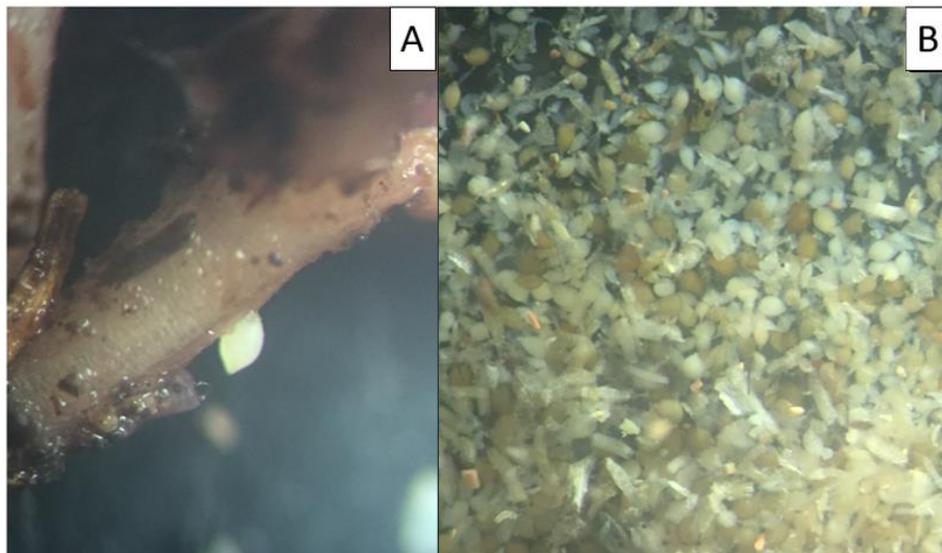
\*Os dados foram transformados em "Log x" na base 10 para efeito de análise. C.V.= 2,62%. \*\*Não significativo.

De acordo com os resultados obtidos, pode-se observar uma alta taxa de reprodução de *C. cacti* em todos os tratamentos e, com isso, constata-se que o tempo de 180 dias do cisto no solo sem hospedeira e sem irrigação não interferiu quanto à viabilidade dos ovos e dos juvenis no interior do cisto.

Em comparação com o principal gênero entre os fitonematoides, Tihohod (1993) afirma que a reprodução no gênero *Meloidogyne* se dá em escala logarítmica por inúmeros gerações durante todo o desenvolvimento da planta hospedeira. Acredita-se que o mesmo acontece para o nematoide do cisto das cactáceas, pois após a infestação do solo com 50 cistos e apenas 45 dias – correspondente a cerca de dois ciclos – houve um aumento médio em torno de 46 vezes no número de cistos nas raízes de pitiaia.

No ensaio em que duas pitaias foram transplantadas para dois vasos 26 meses depois da retirada da palma forrageira (*O. ficus-indica*) infectada, foram quantificados nas raízes da pitais 45 dias depois, um total de 1.433 cistos e fêmeas em um dos vasos e 1.367 cistos e fêmeas, do outro vaso, ou seja, as estruturas de resistência do nematoide permanecem viáveis por pelo 2,3 anos (Figura 10). Ressalta-se que, mais uma vez, machos não foram observados nas raízes da hospedeira.

**Figura 10.** Detalhe da raiz de pitiaia e da suspensão de *C. cacti* obtida na avaliação da sobrevivência de cistos no solo em vasos após 26 meses sem hospedeira. A – Fêmea de *C. cacti* em raízes de pitiaia 45 dias após o transplântio da planta para o vaso com solo infestado; B – Detalhe da suspensão com numerosas fêmeas e cistos obtida após extração do nematoide da raiz e do solo.



Fonte, Café, 2019.

Não há informações quanto ao período de viabilidade de ovos no interior

dos cistos de *C. cacti*. Sabe-se, porém, que os cistos de heteroderídeos podem manter ovos viáveis em seu interior por muitos anos. Foi relatado, por exemplo, que o nematoide de cisto da soja mantém ovos viáveis em seu interior por até oito anos devido a diversos tipos de dormência como a anidrobiose ou por sazonalidade, por exemplo (YEN, NIBLACK e WIEBOLD, 1995). Já o nematoide dourado da batata, *G. rostochiensis*, ainda ausente no Brasil, pode manter ovos viáveis no interior de seu cisto por mais de 20 anos e são resistentes à dessecação (CARES e BALDWIN, 1995; FERRAZ e BROWN, 2016, TIHOHOD, 1993). Baldwin e Mundo-Ocampo, (1991) relataram que *H. goettingiana* permanece viável por até 12 anos em climas mais frios. Há, contudo, a necessidade de estudos por períodos mais longos para esclarecer sobre a viabilidade de cistos de *C. cacti* em solo sem hospedeiras e, com isso, a longevidade dessas estruturas de resistência no campo.

Wang *et al.* (2017), após coletar solo em 17 municípios de Nova Iorque com o intuito de investigar a presença do nematoide do cisto da soja em campos de cultivo sem a hospedeira, inocularam cerca de 750 ovos e juvenis de *H. glycines* em soja 'Williams 82' a fim de verificar a viabilidade do restante da amostra que foi mantida após análises morfométricas e moleculares. A fabácea foi mantida em câmara de crescimento a 25°C com 16 horas de luz por dia e, após 65 dias da inoculação, foram constatados mais de 4.800 fêmeas e cistos do fitonematoide.

Os nematoides das lesões radiculares, *P. coffeae* e *P. brachyurus*, apesar de não formarem estruturas de resistência, podem permanecer em solos sem plantas hospedeiras por 8 e 21 meses, respectivamente, devido ao mecanismo de dormência que ocorre em razão de condições ambientais desfavoráveis. Os juvenis de quarto estágio do nematoide dos caules e bulbos do alho, *Ditylenchus dipsaci*, após a morte de sua planta hospedeira, pode entrar em anidrobiose e manter-se quiescente por um longo tempo na planta ou no solo (TIHOHOD, 1993).

Espécies de fitonematoides dos gêneros *Meloidogyne*, *Rotylenchulus*, *Radopholus* e *Helicotylenchus*, por exemplo, não possuem em seus ciclos de vida estruturas ou adaptações especiais que conferem resistência às condições adversas permitindo a sobrevivência do patógeno. Todavia, diversas espécies desses gêneros são altamente polífagas, fazendo com que esses fitonematoides possam sobreviver empregando uma alternativa, ou seja, parasitando vegetação espontânea por um longo tempo em uma área agrícola.

#### 4.5 Hospedabilidade de *Cactodera cacti*

Dentre todas as espécies vegetais testadas nesse ensaio, apenas as plantas da família Cactaceae foram hospedeiras do *C. cacti* como pode-se observar na Tabela 3.

**Tabela 3.** Resultado da avaliação da hospedabilidade das 12 espécies inoculadas com 2.000 ovos de *C. cacti* após 45 dias da inoculação.

Espécie	Nome popular	Família botânica	Hospedabilidade*	FR**	Nº de ovos
<i>Coriandrum sativum</i>	Coentro 'Verdão'	Apiaceae	-	0	0
<i>Petroselinum crispum</i>	Salsa 'Crespa'	Apiaceae	-	0	0
<i>Kalanchoe laetivirens</i>	Aranto	Crassulaceae	-	0	0
<i>Cereus jamacaru</i>	Mandacaru ornamental	Cactaceae	+	NR	NR
<i>Schlumbergera truncata</i>	Flor-de-maio	Cactaceae	+	6,53	13.066,67
<i>Selenicereus</i> sp.	Pitaia amarela	Cactaceae	+	2,83	5.666,67
<i>Euphorbia milii</i>	Coroa-de-cristo	Euphorbiaceae	-	0	0
<i>Ocimum basilicum</i>	Manjericão	Lamiaceae	-	0	0
<i>Solenostemon scutellarioides</i>	Cóleus	Lamiaceae	-	0	0
<i>Capsicum baccatum</i>	Pimenta cumari-do-Pará	Solanaceae	-	0	0
<i>Capsicum chinense</i>	Pimenta 'Bico'	Solanaceae	-	0	0
<i>Solanum lycopersicum</i>	Tomate 'Carolina'	Solanaceae	-	0	0
<i>Solanum lycopersicum</i>	Tomate 'Santa Clara'	Solanaceae	-	0	0

\*Sinal negativo (-): espécie não-hospedeira; Sinal positivo (+): espécie hospedeira; \*\*FR: fator de reprodução; NR: Contagem de ovos não realizada devido à infecção mista com *M. incognita*.

As raízes das espécies hospedeiras apresentava, em geral, muitas fêmeas e cistos aderidos às raízes. No entanto, a cactácea ornamental flor-de-maio,

tinha um maior número de fêmeas e cistos que as outras duas cactáceas testadas, pitaia amarela e mandacaru.

Nenhum sintoma secundário foi observado nas cactáceas infectadas, ou seja, as plantas apresentavam desenvolvimento, cor dos cladódios e turgidez semelhantes às plantas das testemunhas não inoculadas. Exceto pela presença de fêmeas e cistos, o sistema radicular das hospedeiras também apresentou um bom desenvolvimento, assim como visto nas testemunhas das mesmas espécies.

Esser (1992) constatou em seus estudos de hospedeiras do nematoide do cisto das cactáceas que essa espécie está relacionada a três famílias botânicas: Apiaceae, Cactaceae e Euphorbiaceae. Entretanto, as espécies *C. sativum* e *P. crispum*, pertencentes à família Apiaceae e *Euphorbia milli*, pertencente à família Euphorbiaceae, não foram infectadas pela *C. cacti*. Ressalta-se que a euforbiácea testada pertence ao mesmo gênero *Euphorbia* das espécies hospedeiras testadas por Esser (1992).

A cana-de-açúcar (*S. officinarum*) também está inserida na lista de hospedeiras do *C. cacti* (STELTER e KUHN, 1973), entretanto nenhuma espécie da família Poaceae foi testada no decorrer desse ensaio.

Uma comparação foi realizada entre as raízes de duas cactáceas hospedeiras, a pitaia vermelha (*Hylocereus* sp.) usada como controle positivo, e a flor-de-maio (*S. truncata*) no mês de abril de 2019 para se verificar a de maior suscetibilidade ao patógeno, ou seja, a que possibilitasse uma maior multiplicação do nematoide, empregando-se o mesmo inóculo. Após extrações de cistos e fêmeas de *C. cacti* das raízes e do solo, foram obtidos e contabilizados ovos de ambas as espécies para efeito do cálculo do fator de reprodução (FR) (Tabela 4).

**Tabela 4.** Fator de reprodução e média do número de ovos em pitaia vermelha (*Hylocereus* sp.) e flor-de-maio (*Schlumbergera truncata*) inoculadas com 2.000 ovos aos 45 dias após a inoculação.

Tratamento	FR	Média de ovos
<i>Hylocereus</i> sp.	13,98	27.966,65 a
<i>Schlumbergera truncata</i>	6,53	13.066,67 b
C.V.		36,79%

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

Observou-se que ambas as cactáceas são boas hospedeiras para o fitonematoide *C. cacti*, tendo em vista que o fator de reprodução obtido para cada espécie foi superior a 6,5. Na flor-de-maio, o número de ovos nas raízes foi mais de seis vezes superior à quantidade de ovos inoculados aos 45 DAI. Porém na pitiaia vermelha, a população final foi ainda o dobro da encontrada na flor-de-maio e significativamente superior ao resultado da ornamental.

Em um segundo momento, no mês de junho de 2019, foi realizada outra comparação semelhante à anterior, mas desta vez entre a pitiaia vermelha (*Hylocereus* sp.) e a pitiaia amarela (*Selenicereus* sp.) (Tabela 5) com o mesmo objetivo de se constatar a de maior suscetibilidade ao nematoide, empregando-se o mesmo inóculo.

**Tabela 5.** Fator de reprodução e média do número de ovos em pitiaia vermelha (*Hylocereus* sp.) e pitiaia amarela (*Selenicereus* sp.) inoculadas com 2.000 ovos aos 45 dias após a inoculação.

Tratamento	FR	Média de ovos
<i>Hylocereus</i> sp.	7,53	15.066,67 a
<i>Selenicereus</i> sp.	2,83	5.666,67 b
C.V.		14,43%

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

Constatou-se que as pitaias vermelha e amarela são boas hospedeiras para o nematoide do cisto das cactáceas, tendo em vista que os fatores de reprodução obtidos foram superiores a 1. No entanto, constatou-se que a pitiaia vermelha possibilitou a obtenção de população final sete vezes e meia maior ao inóculo, estatisticamente superior ao número de ovos encontrado nas raízes de pitiaia amarela, indicando ser uma hospedeira que permite uma elevada multiplicação do patógeno em curto espaço de tempo.

Ressalta-se que Esser (1992) já havia relatado infecção em espécies dos gêneros *Schlumbergera* e *Selenicereus*. A espécie *S. truncata* já foi relatada como hospedeira de *C. cacti* em diversos outros trabalhos (GRANEY e BIRD, 1990; LANGDON e ESSER, 1969; OLIVEIRA *et al.* 2007; UK, CAB *et al.*, 2014).

Uma observação realizada em casa de vegetação permitiu constatar que após seis meses de infecção, pelo menos 10 plantas de pitaias do gênero

*Hylocereus* inoculadas com 2.000 ovos aos 30 dias de idade apresentavam um amarelecimento em seus cladódios (Figura 11). Considerando a suscetibilidade da espécie e o tempo do ciclo de vida na pitiaia vermelha, é possível imaginar que após os seis meses teriam sido completados pelo menos 10 ciclos de vida originando milhares de ovos em numerosos cistos e fêmeas parasitando suas raízes, o que justificaria o aspecto clorótico observado nas plantas.

**Figura 11** – Plantas de pitiaia vermelha com nove meses de idade. Esquerda: Pitaias sadias. Direita: Pitaias cloróticas inoculadas com 2.000 ovos de *C. cacti* há sete meses.



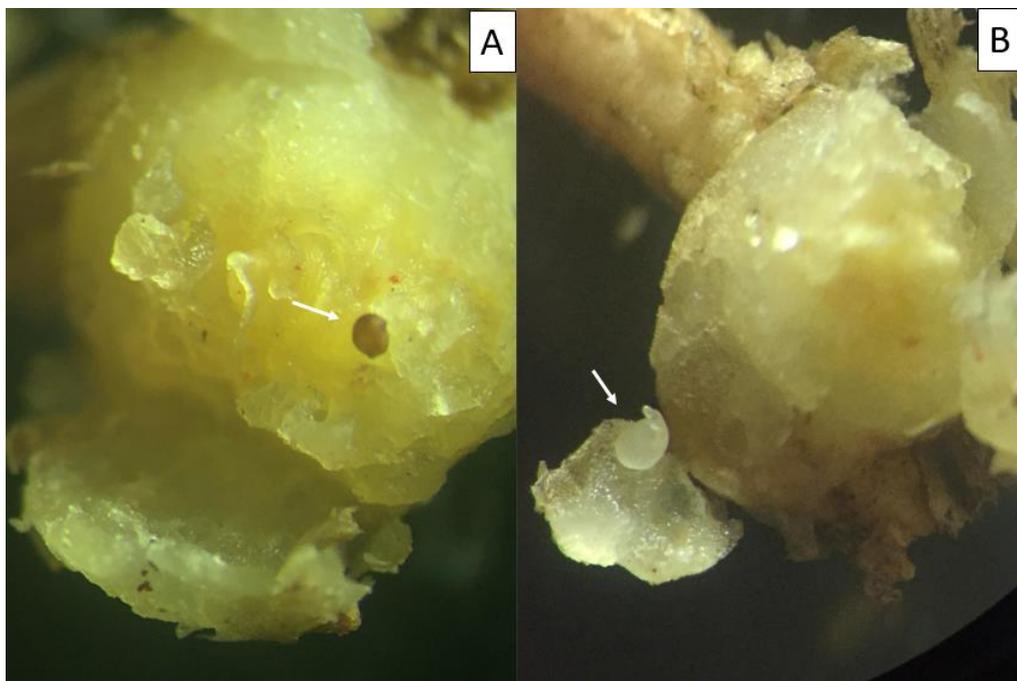
Fonte: Café, 2019

O *C. cacti* é o único fitonematoide formador de cisto já detectado infectando cactáceas. Vários outros heteroderídeos já foram testados quanto à hospedabilidade em cactáceas, porém não foi constatada infecção. São exemplos: *C. milleri* em *Opuntia*, *Mammillaria*, *Lobivia* e *Schlumbergera* (GRANEY e BIRD, 1990), *C. betulae* em *Selenicereus* (RIGGS, HIRSCHMANN e HAMBLEN, 1969), *P. punctata* em *Opuntia* (RADICE, MYERS e HALISKY, 1985) e *H. zae* em *Opuntia* (RINGER, SARDANELLI e KRUSBERG, 1987). Por outro lado, outros nematoides de outras famílias são capazes de infectar cactáceas, os principais são: *M. incognita*,

*M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. enterolobii* da família Meloidogynidae, *P. penetrans*, *P. vulnus*, *P. neglectus* da família Pratylenchidae, *H. dihystra*, *H. erythrinae* e *H. digonicus* da família Hoplolaimidae (NEMABASE, 2018; RAMIREZ-SUAREZ *et al.*, 2016; SILVA, SANTOS e SILVA, 2016).

O mandacaru ornamental (*C. jamacaru*) utilizado neste experimento foi adquirido já enraizado em vaso. Com isso, procedeu-se a inoculação de ovos de *C. cacti* conforme descrito anteriormente. Contudo, ao retirar as plantas para avaliação, foi verificada a presença de galhas. Após eletroforese de isoenzimas, foi constatado que *M. incognita* era o agente causal das galhas nas raízes da cactácea. Apesar da planta já está infectada por outro patógeno, o nematoide do cisto das cactáceas também estabeleceu sítio de alimentação no sistema radicular da planta, inclusive no interior de galhas maiores (Figura 12).

**Figura 12.** Detalhe da raiz de pitáia com infecção mista. A - Cisto de *C. cacti* (seta) em uma galha formada por *M. incognita* em *C. jamacaru*; B - Fêmea de *M. incognita* (seta) retirada da mesma galha em mandacaru.

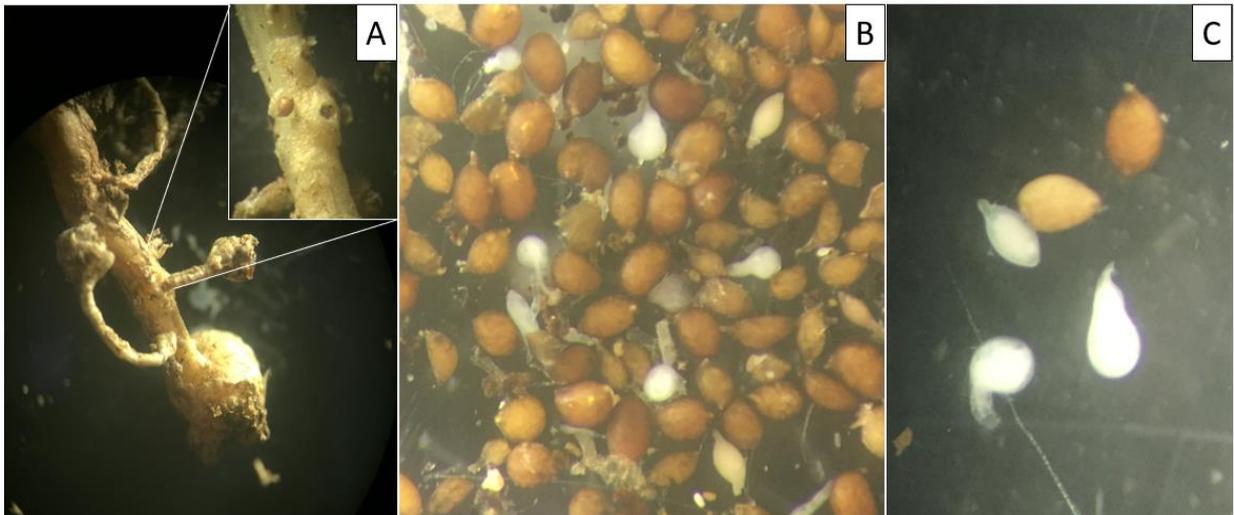


Fonte: Café, 2019.

Após submeter a raiz de mandacaru e o solo do vaso aos métodos de extração de nematoides Coolen e D'Herde (1972) e o CS, pode-se constatar que muitos juvenis de *C. cacti* infectaram a raiz e se desenvolveram completando seu ciclo de vida junto aos nematoides das galhas ali presentes (Figura 13). Ressalta-se

que, devido à infecção mista, os ovos do nematoide do cisto das cactáceas não foram contabilizados devido à semelhança com os ovos de *M. incognita* na suspensão obtida, os quais poderiam ser confundidos com ovos do heteroderídeo e, conseqüentemente, superestimar o fator de reprodução do fitonematoide nessa hospedeira.

**Figura 13.** Detalhe da suspensão obtida após extração de nematoides em raiz de *C. jamacaru*; A- Raiz de mandacaru com infecção mista (close - cisto); B- Suspensão obtida com a presença de abundantes cistos e fêmeas de *C. cacti* e fêmeas de *M. incognita*; C- Fêmea jovem, cisto pardo e cisto marrom de *C. cacti* acima de duas fêmeas de *M. incognita*.



Fonte: Café, 2019.

Sabe-se que espécies do gênero *Meloidogyne* são as mais disseminadas no mundo e são capazes de infectar praticamente todas as plantas cultivadas. Silva, Santos e Silva (2016), detectaram a presença de *M. enterolobii* infectando cactos em Fortaleza-CE. Com isso, pode-se inferir que, cactáceas infectadas em áreas infestadas com o nematoide das galhas, também poderão ser infectadas pelo nematoide do cisto das cactáceas, o que poderia agravar ainda mais os danos na planta e as perdas de produção para o produtor.

## 5 CONCLUSÃO

O ciclo de vida de *C. cacti* em pitaia vermelha é de 18 dias com o surgimento de cistos aos 24 dias após a inoculação.

O número médio de indivíduos por cisto de *C. cacti* é de 142,17.

Há um baixo percentual de eclosão de juvenis de *C. cacti in vitro*.

O tempo de 26 meses sem hospedeira não afeta a viabilidade dos cistos de *C. cacti*.

As hospedeiras do nematoide do cisto das cactáceas restringiu-se às espécies vegetais da família Cactaceae.

A pitaia do gênero *Hylocereus* mostrou-se uma excelente hospedeira do nematoide.

## REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. Plant Pathology. 5th eds. **Department of Plant Pathology. University of Florida.** United States of America. 2005.
- ALMEIDA, M. M. M. **Doenças fúngicas em pitaya (*Hylocereus* sp.) no estado do Ceará.** Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2018.
- ANDRADE, R. A. D.; MARTINS, A. B. G., e SILVA, M. T. H. Influência da fonte material e do tempo de cura na propagação vegetativa da pitaya vermelha (*Hylocereus undatus* Haw). **Revista Brasileira de Fruticultura**, São Paulo, 183-186, 2007.
- BALDWIN, J. G.; MUNDO-OCAMPO, M. Heteroderinae, cyst-and non-cyst-forming nematodes. **Manual of agricultural nematology.** New York: Marcel Dekker, p. 275-362, 1991.
- BARTHLOTT, W. e HUNT, D. R. Cactaceae. In: Flowering Plants- Dicotyledons (pp. 161-197). **Springer**, Berlin, Heidelberg. 1993.
- CANTERI, M.G. *et al.* SASM-Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, Paraná, v. 1, n. 2, p. 18-24., 2001.
- CARES, J. E. e BALDWIN, J. G. Nematoides formadores de cisto do gênero *Heterodera*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Brasília, v. 3, n. 11. 1995.
- CARES, J. E.; HUANG, S. P. Taxonomia atual de fitonematóides: chave sistemática simplificada para gêneros—parte I. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Brasília, v. 8, p. 185-223. 2000.
- CHAN, H. Y. *et al.* The occurrence, identification and ecological studies of the cactus nematode from dragon fruit crops in Taiwan. **植物醫學**, Taiwan, 58, 25-31, 2016.
- CHARLES, J. S. K.; VENKITESAN, T. S. Biology of banana population of *Heterodera oryzicola* (Nemata: Tylenchina). **Fundam. appl. Nematol**, [s.l.], v. 18, n. 5, p. 493-496, 1995.
- CHO, M. R. *et al.* New record and damage of *Cactodera cacti* in Korea. **RDA Journal of Agricultural Science, Crop Protection**, [s.l.], v. 37, n. 1, p. 324-328, 1995.
- COOLEN, W. A. e D'HERDE, C. J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue** [s.l.], p. 77, 1972.
- CORDERO, C., BALDWIN, J. G., & MUNDO-OCAMPO, M. Fine structure of the posterior cone of females of *Cactodera cacti* Filip'ev & Schuurmans Stekhoven (Nemata: Heteroderinae). **Revue de nematologie** [s.l.], v. 14, p. 455-465, 1991.

COYNE, D. L. Nematologia prática: Um guia de campo e de laboratório. **IITA**, Cotonou, Benin, p. 82, 2007.

CUNHA, R. P. *et al.* Ciclo de vida de *Heterodera glycines* raça 9 em soja no Maranhão. **Summa Phytopathologica**, São Luís, v.34, n.3, p.262-264, 2008.

DIAS, W. P. *et al.* Nematóide de Cisto da Soja: Biologia e Manejo Pelo Uso da Resistência Genética. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, n. 1, p.1-16, 2009.

DONADIO, L. C. Pitaya. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 3. 2009.

DUAN, Y. X.; WANG, D.; CHEN, L. J. First report of the cactus cyst nematode, *Cactodera cacti*, on cactus in northern China. **Plant disease**, [s.l.], v. 96, n. 9, p.1385-1385, set. 2012.

ESSER, R. P. Cactus cyst nematode: *Cactodera cacti*. **Bureau of Nematology**, Gainesville, v. 1, n. 197, p.1-3, fev., 1992.

EVANS, G. *et al.* Life cycle of the cyst forming nematode *Cactodera torreyanae* Cid del Prado and Subbotin, 2014 and its relationship with its host *Suaeda edulis* Flores Oliv. & Noguez. **Nematropica**, [s.l.], v. 45, n. 2, p. 189-197, 2015.

EVANS, K.; ROWE, A. Distribution and economic importance. In: SHARMA, S. B. (Ed.). **The Cyst Nematodes**. [s.l.]: Springer, p. 1-30. 1998.

FENG, Y. *et al.* *Cactodera chenopodiae* (Nematoda: Heteroderidae), a new species of cyst nematode parasitizing common lambsquarter (*Chenopodium album*) in Liaoning, China. **Zootaxa**, n. 4407(3), p. 361-375. 2018.

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

FERRAZ, S. *et al.* **Manejo sustentável de fitonematóides**. Viçosa: UFV. ed. 2, 2012.

FREITAS, L. G.; NEVES, W. S.; OLIVEIRA, R. D. L. Métodos em nematologia vegetal. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa, MG: UFC, cap. 11, p. 253-291, 2007.

GOFFART, H. *Heterodera schachtii* Schmidt an gemeiner Hanfnessel (*Galeopsis tetrahit* L.) und an Kakteen. **Parasitology Research** [s.l.], v. 8, n. 5, p. 528-532, 1936.

GOLDEN, A. M. e RASKI, D. J. *Heterodera thornei* n. sp. (Nematoda: Heteroderidae) and a review of related species. **Journal of nematology**, [s.l.] v. 9, n. 2, p, 93, 1977.

GRANEY, L. S. O.; BIRD, G. W. Descriptions and comparative morphology of *Cactodera milleri* (Nematoda: Heteroderidae) and *Cactodera cacti* with a review and

key to the genus *Cactodera*. **Journal of nematology**, [s.l.] v. 22, n. 4, p. 457, 1990.

HUTZELL, P. A.; KRUSBERG, L. R. Temperature and the life cycle of *Heterodera zaeae*. **Journal of Nematology**, [s.l.] v. 22, n. 3, p. 414, 1990.

JAYAPRAKASH, A. & RAO, Y. S. Life history and behaviour of the cyst nematode, *Heterodera oryzicola* Rao and Jayaprakash, 1978 in rice (*Oryza saliva* L). **Proc. Indian nain. Acad. Sei., Animal Sei.**, [s.l.] v. 91, p. 283-295, 1982.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant disease reporter**, [s.l.], v. 48, n. 9, 1964.

JUNQUEIRA, K. P. *et al.* **Informações preliminares sobre uma espécie de pitaya do Cerrado**. Planaltina DF: Embrapa Cerrados, Boletim técnico, v. 62, p.18, 2002.

LANGDON, K. R. e ESSER, R. P. Cactus cyst nematode, *Heterodera cacti*, in Florida, with host list. **Plant Disease Reporter**, [s.l.], v. 53, n. 2, p. 123-125, 1969.

LAURITIS, J. A.; REBOIS, R. V.; GRANNEY, L. S. Development of *Heterodera glycines* Ichinohe on soybean, *Glycine max* (L.) Merr., under gnotobiotic conditions. **Journal of Nematology**, [s.l.] v. 15, n. 2, p. 272, 1983.

LE BELLEC, F., VAILLANT, F. e IMBERT, E. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a new crop, a market with a future. **Fruits**, [s.l.] v. 61, n. 4, p. 237-250, 2006.

LIMA, A. C. **Estudo Taxonômico de Cactaceae Juss. no Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande. 2014.

LIOU, M. R.; HUNG, C. L.; LIOU, R. F. First report of *Cactus virus X* on *Hylocereus undatus* (Cactaceae) in Taiwan. **Plant disease**, [s.l.], v. 85, n. 2, p. 229-229, 2001.

LORDELLO, A. I. L.; LORDELLO, R. R. A.; QUAGGIO, J. A. Ocorrência do nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines*) no Brasil. **Revista de Agricultura**, [s.l.], v. 67, n. 3, p. 223-225, 1992.

LUC, M. Cyst nematodes in equatorial and hot tropical regions. In: LAMBERTI, F., & TAYLOR, C. E. (EDS.). Cyst nematodes. **Springer Science & Business Media**. [s.l.], v 121, p. 355-372. 2012.

MANSO, E. S. B.G. C. e TENENTE, R. C.V. Nematóide (*Heterodera glycines* Ichinohe) formador de cistos em soja. **Comunicado Técnico. CENARGEM/EMBRAPA**. Brasília, p. 5, 1984.

MARQUES, V. B. *et. al.* Ocorrência de insetos na pitaita no município de Lavras-MG. **Agrarian**, Lavras, v. 5, n. 15, p. 88-92, 2012.

MENDES, M. L. e DICKSON, D. W. Detection of *Heterodera glycines* on soybean in Brazil. **Plant disease**, [s.l.], v. 77(5), p. 499-500, 1993.

MENEZES, M. O. T. de; TAYLOR, N. P.; LOIOLA, M. I. B. Flora do Ceará, Brasil: Cactaceae. **Rodriguésia**, [s.l.], v. 64, n. 4, p. 757-774, 2013.

MICHEREFF, S.J. **Fundamentos de fitopatologia**. Recife, Universidade Federal Rural de Pernambuco, p. 134-145, 2001.

MOENS, M., PERRY, R. N., e JONES, J. T. Cyst nematodes-Life cycle and economic importance. **Cyst Nematodes**, CABI, Wallingford, UK, p. 1-26, 2018.

MONTEIRO, A. R.; LORDELLO, L. G. E. e LORDELLO, R. R. A. Ocorrência no Estado de São Paulo do nematoide *Heterodera fici* Kirjanova, 1954, nocivo à figueira. **Publicação-Sociedade Brasileira de Nematologia** [s.l.], 1977.

MORA, D. Manejo fitosanitario del cultivo de la pitahaya. **ICA**, Bogotá, v. 1, 2012.

MOREIRA, R. A. *et al.* Cultivo da pitaia: implantação. **Boletim Técnico-nº. 92** [s.l.], v. 92, p. 1-16, 2012.

NEMABASE: A database of the host status of plants to nematodes. 2018. Disponível em: <<http://nemaplex.ucdavis.edu/Nemabase2010/NematodeHostRangeDDQuery.aspx>>. Acesso em: 24/07/2018.

NUNES, E. N. *et al.* Pitaia (*Hylocereus* sp.): uma revisão para o Brasil. **Gaia Scientia**, [s.l.], v. 8(1), 2014.

OLIVEIRA, C. M. G. de *et al.* Ocorrência de nematóides fitoparasitos em plantas ornamentais nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, [s.l.], v. 13, p. 135-141, 2007.

OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. **Mededelingen Landbouhogeschool**, Wageningen 66:3- 46, 1966.

PERRY, R. N. Dormancy and hatching of nematode eggs. **Parasitology Today** [s.l.], v. 5, n. 12, p. 377-383, 1989.

PIEDRAHITA, Ó. A. G.; PÉREZ, L.; PATIÑO, A. Reconocimiento de nematodos fitoparásitos en pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* HAW.). **Centro de Museos Museo de Historia Natural**, Manizales, v. 2, n. 16, p.149-161, 2012.

RADICE, A. D.; MYERS, R. F.; HALISKY, P. M. Studies on the host range, biology, and pathogenicity of *Punctodera punctata* infecting turfgrasses. **Journal of nematology**, [s.l.], v. 17, n. 2, p. 162, 1985.

RAMIREZ-SUAREZ, A. *et al.* First report of *Meloidogyne enterolobii* infecting columnar cacti *Stenocereus queretaroensis* in Jalisco, Mexico. **Plant Disease**, México, v. 100, n. 7, p. 1506-1506, 2016.

REBOUÇAS, R. B. **Cactodera cacti** (Nematoda: Heteroderidae): Ocorrência natural em mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.) no Ceará e investigação de hospedeiras em cactáceas e hortaliças. Trabalho de conclusão de curso

(Graduação em Agronomia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

RIGGS, R. D.; HIRSCHMANN, H.; HAMBLEN, M. L. Life cycle, host range, and reproduction of *Heterodera betulae*. **Journal of nematology**, [s.l.], v. 1, n. 2, p. 180, 1969.

RINGER, C. E.; SARDANELLI, S.; KRUSBERG, L. R. Investigations of the host range of the corn cyst nematode, *Heterodera zea*, from Maryland. **Journal of nematology**, [s.l.], v. 19, n. 1, p. 97, 1987.

SANTOS, G. M. M., *et al.* Utilização de frutos de cactos (Cactaceae) como recurso alimentar por vespas sociais (*Hymenoptera, Vespidae, Polistinae*) em uma área de caatinga (Ipirá, Bahia, Brasil). **Revista Brasileira de Zoologia**, Salvador, v. 24(4), p. 1052-1056, 2007.

SANTOS, J. M.; PREZOTTO, T; MAIA, A. S. Detecção de *Heterodera cacti* em São Paulo. **Nematologia Brasileira**, Picaricaba, v. 25, n. 1, p.139-140, 2001.

SHEPHERD, A. M. Extraction and estimation of *Heterodera*. In: Southey, J. F. (Ed.) **Laboratory methods for work with. plant and soil nematodes**, London, p. 23-43, 1970.

SIDDIQI, M. R. Tylenchida: parasites of plants and insects. **CABI Publishing**, Wallingford, Oxon, p. 833, 2000.

SILVA, A. S. *et al.* Avaliação da composição físico-química da coroa-de-frade. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 5, p.1-9, 2005.

SILVA, M. C. L.; SANTOS, C. D. G.; SILVA, G. S. Species of Meloidogyne associated with vegetables in microregions of the state of Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 47, n. 4, p. 710-719, 2016.

STELTER, H. e KUHN, H., The cactus cyst nematode, *Heterodera cacti*. **Nachrichtenblatt fur den Pflanzenschutzdienst in der DDR**, [s.l.], v. 27, n. 11, p. 239-240, 1973.

STONE, A. R. Taxonomy and phylogeny of cyst nematodes. In: LAMBERTI, F., & TAYLOR, C. E. (EDS.). Cyst nematodes. **Springer Science & Business Media**, [s.l.], v.121, 1985.

STURHAN, D. On the presence or absence of phasmids in males of Heteroderidae (Tylenchida). **Nematology** [s.l.], v. 18, n. 1, p. 23-27, 2016.

SWEETS, L. E. Soybean Cyst Nematode. **Proceedings of the Integrated Crop Management Conference**, [s.l.], p. 93-98, 1989.

TAIZ, L. *et al.* Fisiologia e desenvolvimento vegetal. **Artmed Editora** [s.l.]. 2017.

TAKAHASHI, L. M. *et al.* First report of *Colletotrichum gloeosporioides* on *Hylocereus megalanthus* in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, [s.l.], v. 3, n. 1, p. 96-97,

2008.

TEL-ZUR, N. *et al.* Clone identification and genetic relationship among vine cacti from the genera *Hylocereus* and *Selenicereus* based on RAPD analysis. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 100, n. 1-4, p. 279-289, 2004.

THE PLANT, List. **The Angiosperms (Flowering plants)**. [s.l.], 2013. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/>>. Acesso em: 06/07/2018.

TIHOHOD, D. Nematologia agrícola aplicada. **Funep**, São Paulo, p. 372, 1993.

UK, CAB *et al.* *Cactodera cacti* (Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941), cactus cyst eelworm. [pest/pathogen]. **Cactodera cacti (Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941), cactus cyst eelworm. [pest/pathogen]**. [s.l.], n. AQB CPC record, 2014.

VALENCIA-BOTÍN, A. J.; *et al.* A brief overview on pitahaya (*Hylocereus* spp.) diseases. **Australasian Plant Pathology**, [s.l.], v. 42, n. 4, p.437-440, 2012.

WALACE, R. S.; GIBSON, A. C. Evolution and systematics. In: NOBEL, P S. **Cacti: Biology and uses**. University of California Press, Berkeley, London, p. 1-21. 2002.

WANG, X. *et al.* First report of the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*, in New York. **Plant Disease**, [s.l.], v. 101, n. 11, p. 1957-1958, 2017.

WINKELHEIDE, R.; STURHAN, D. Studies on host specificity of a *Pasteuria* isolate from *Heterodera goettingiana*. **Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem**, [s.l.], n. 317, p. 46-53, 1996.

WOUTS, W. M.; BALDWIN, J. G. Taxonomy and identification. In: SHARMA, S. B. (Ed.). **The Cyst Nematodes**. [s.l.], p. 1-30. 1998.

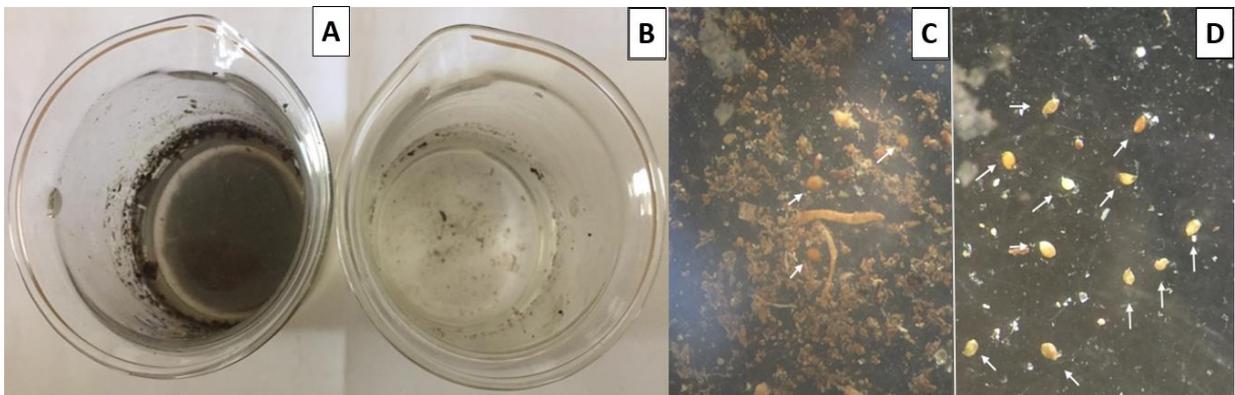
YEN, J. H.; NIBLACK, T. L.; WIEBOLD, W. J. Dormancy of *Heterodera glycines* in Missouri. **Journal of Nematology**, [s.l.], v. 27, n. 2, p. 153, 1995.

ZAPPI, D. *et al.* **Cactaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB70>>. Acesso em: 06.07.2018.

ZAPPI, D.; TAYLOR, N; LAROCCA, J. Introdução: A Riqueza das Cactaceae no Brasil. In: SILVA, S. R. *et al.* **Plano de ação nacional para conservação das cactáceas**. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, n. 24, p. 17-109, 2011.

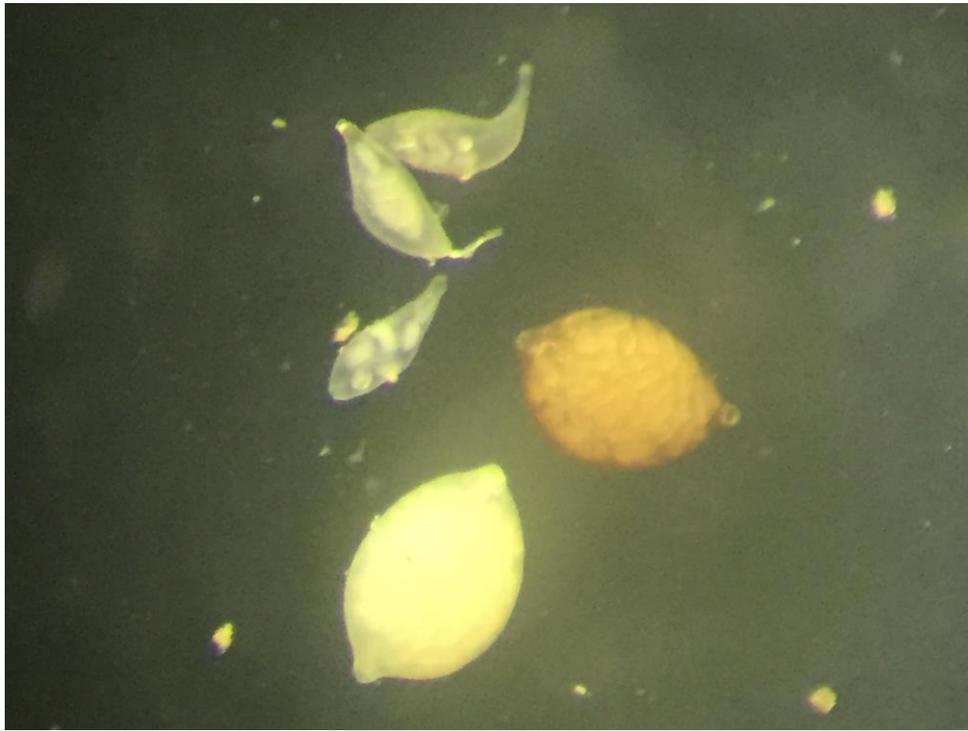
ZUNKE, U. e EISENBACK, J. D. Morphology and ultrastructure. In: SHARMA, S. B. **The Cyst Nematodes**. [s.l.], p. 1-30, 1998.

**APÊNDICE A - COMPARAÇÃO ENTRE A SUSPENSÃO OBTIDA PELO MÉTODO DE SHEPHERD (1970) E A SUSPENSÃO OBTIDA PELO "MÉTODO CS". A- SUSPENSÃO OBTIDA A PARTIR DE SOLO INFESTADO COM *C. CACTI* PELO MÉTODO SHEPHERD APRESENTANDO MUITO RESÍDUO; B-: SUSPENSÃO OBTIDA A PARTIR DE SOLO INFESTADO COM *C. CACTI* PELO "MÉTODO CS" APRESENTANDO POUCO RESÍDUO; C- ASPECTO DA SUSPENSÃO (1 ML) SOMENTE COM CISTOS OBTIDA PELO MÉTODO DE SHEPHERD, COM RESÍDUO; D- ASPECTO DA SUSPENSÃO (1 ML) COM FÊMEAS E CISTOS OBTIDA PELO "MÉTODO CS", MAIS LIMPA. (SETAS = CISTOS)**



Fonte: Café, 2019.

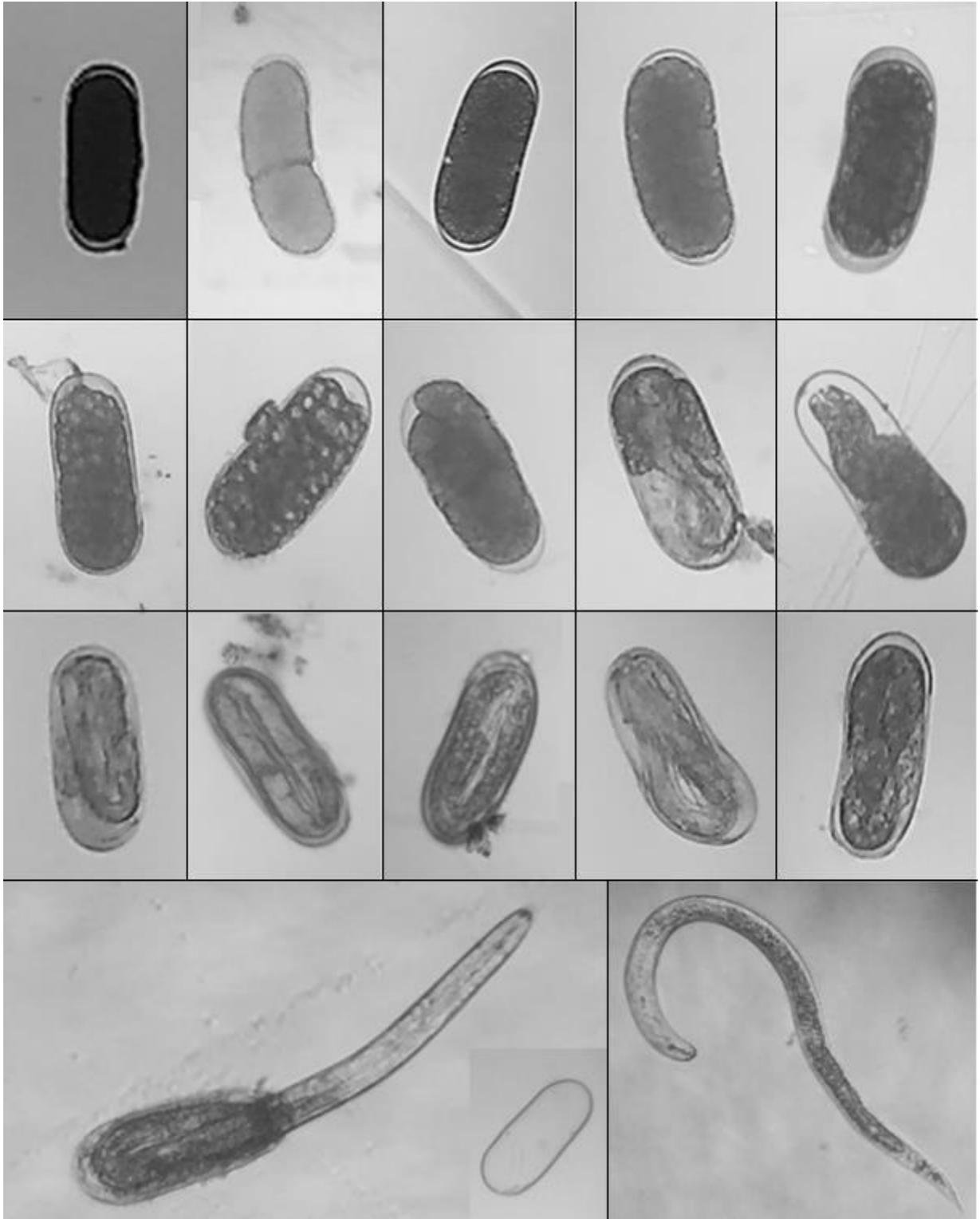
**APÊNDICE B - FÊMEAS JOVENS, FÊMEA MADURA E CISTO DE *C. CACTI*  
OBTIDAS APÓS EXTRAÇÃO DO NEMATOIDE DE RAIZ DE PITAIA**



Fonte: Café, 2019.

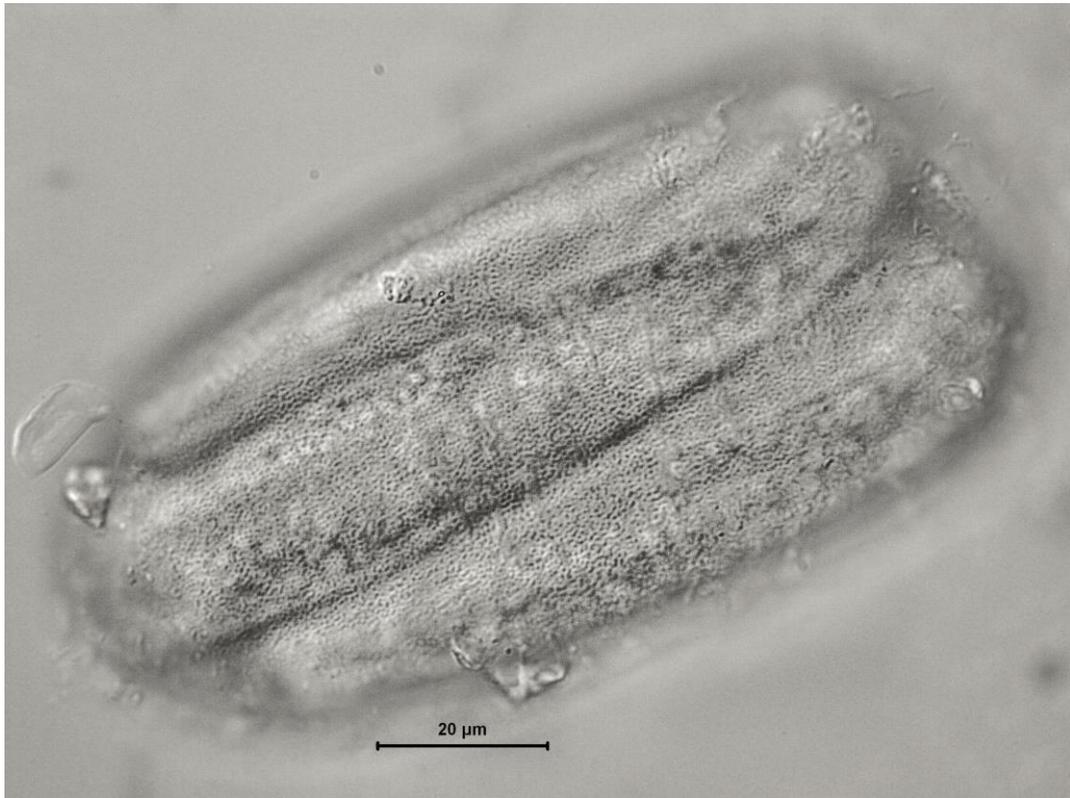
**APÊNDICE C - DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE OVOS DE *C. CACTI*:  
OVO UNICELULAR ATÉ A ECLOSÃO DO JUVENIL DE SEGUNDO ESTÁDIO.**

**OBSERVAÇÃO E MICROSCÓPIO ÓTICO (400X)**



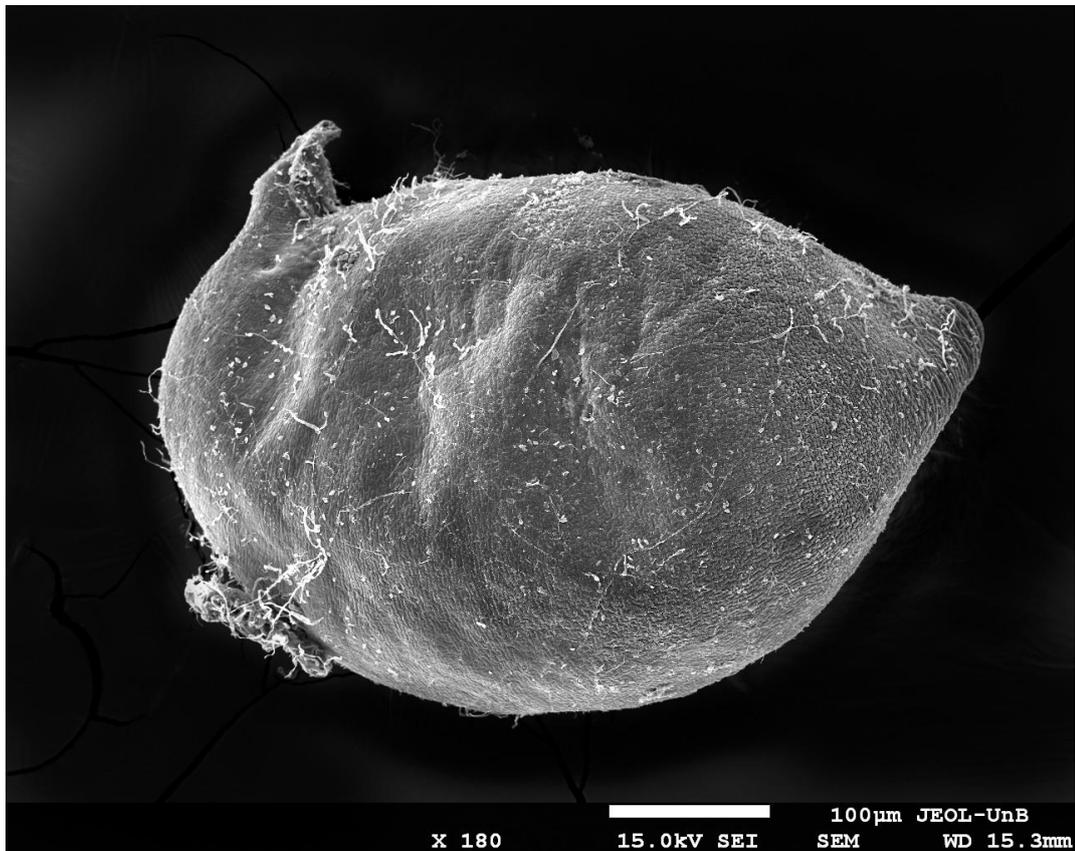
Fonte: Café, 2019.

**APÊNDICE D - OVO DE *C. CACTI* COM JUVENIL FORMADO EM SEU INTERIOR  
E COM ASPECTO RUGOSO EM SUA SUPERFÍCIE**



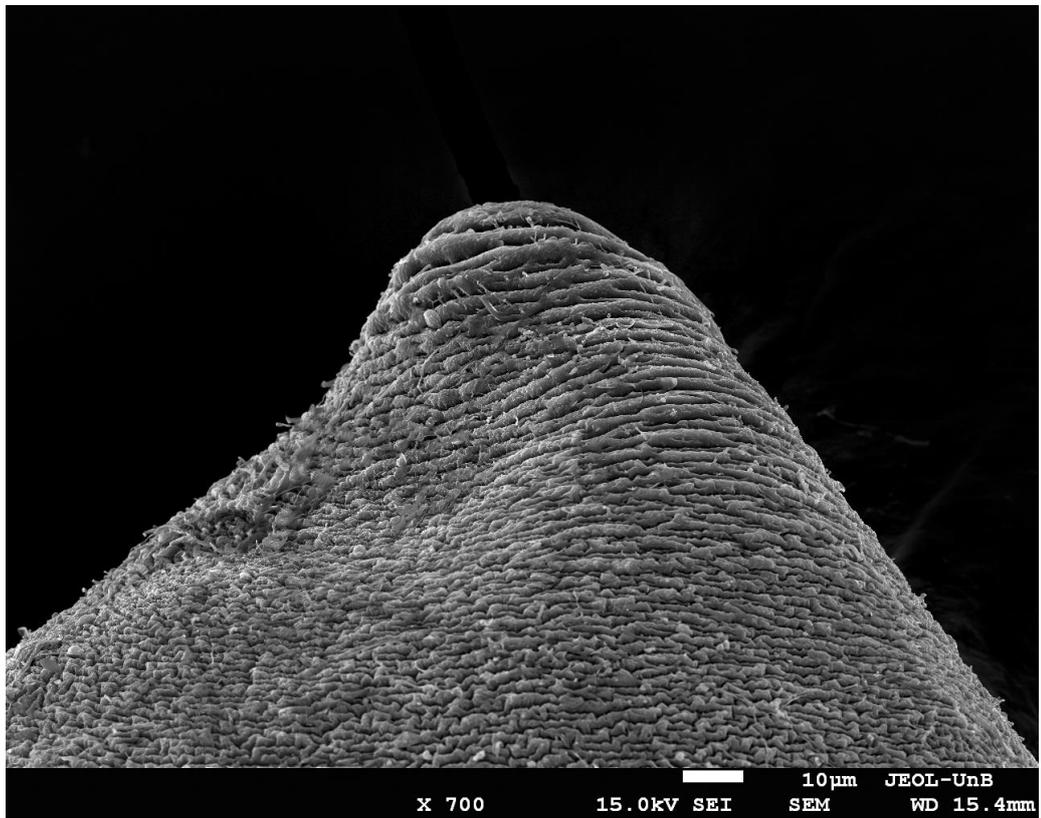
Fonte: Cares, 2019.

**APÊNDICE E - CISTO DE *C. CACTI* SOB MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE  
VARREDURA**



Fonte: Cares, 2019.

**APÊNDICE F - DETALHE DO CONE VULVAR DE UM CISTO DE *C. CACTI* SOB  
MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA**



Fonte: Cares, 2019.

**APÊNDICE G - JUVENIS DE SEGUNDO ESTÁDIO (J2) EM MICROSCÓPIO  
ÓTICO (100X). A- *C. CACTI*; B- *M. INCOGNITA***



Fonte: Café, 2018.

**APÊNDICE H - DETALHE DO ESTILETE DE UM JUVENIL DE SEGUNDO ESTÁDIO DE *C. CACTI* EM SOB MICROSCÓPIO ÓTICO (400X)**



Fonte: Café, 2019.

**APÊNDICE I - FÊMEAS DE *C. CACTI* (SETAS) PARASITANDO O SISTEMA RADICULAR DE FLOR-DE-MAIO (*S. TRUNCATA*) AOS 45 APÓS A INOCULAÇÃO**



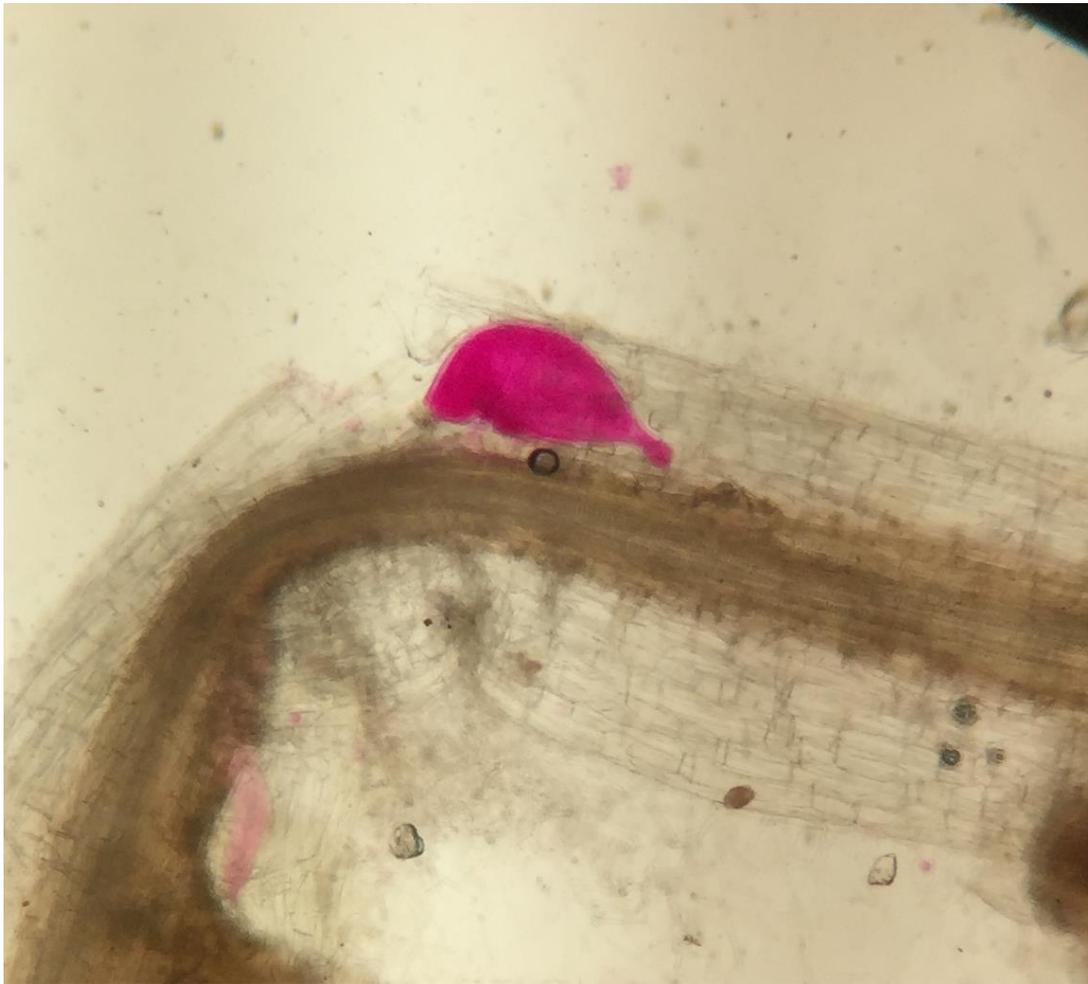
Fonte: Café, 2019.

**APÊNDICE J - FÊMEA DE *C. CACTI* EM RAIZ DE PITAIA AMARELA  
(*SELENICEREUS* SP.) AOS 45 DIAS APÓS A INOCULAÇÃO**



Fonte: Café, 2019.

**APÊNDICE K - FÊMEA DE *C. CACTI* EM RAIZ DE PITAIA VERMELHA APÓS O MÉTODO DE COLORAÇÃO COM FUCSINA ÁCIDA**



Fonte: Café, 2019.

**APÊNDICE L - QUANTIFICAÇÃO DE OVOS E JUVENIS DE SEGUNDO ESTÁDIO  
EM 70 CISTOS DE *C. CACTI* ORIUNDOS EM RAÍZES DE PITAIA**

Rep	Ovos	J2	Total	Rep	Ovos	J2	Total
1	102	35	137	37	95	31	126
2	149	13	162	38	97	43	140
3	148	18	166	39	105	38	143
4	127	22	149	40	127	27	154
5	110	51	161	41	86	64**	150
6	94	35	129	42	111	42	153
7	92	43	135	43	99	44	143
8	120	33	153	44	136	10	146
9	102	20	122	45	128	17	145
10	151	12	163	46	84	32	116
11	128	16	144	47	78	29	107
12	156	25	181	48	87	18	105
13	137	6*	143	49	75	45	120
14	130	9	139	50	61*	30	91
15	134	15	149	51	122	30	152
16	122	30	152	52	140	19	159
17	142	17	159	53	111	15	126
18	89	40	129	54	92	16	108
19	102	29	131	55	93	40	133
20	92	33	125	56	105	18	123
21	110	16	126	57	89	41	130
22	90	43	133	58	91	26	117
23	103	20	123	59	87	48	135
24	86	44	130	60	81	58	139
25	98	36	134	61	81	54	135
26	97	48	145	62	147	19	166
27	131	38	169	63	126	23	149
28	103	58	161	64	121	40	161
29	90	54	144	65	92	43	135
30	106	46	152	66	101	33	134
31	125	25	150	67	92	30	122
32	148	12	160	68	84	35	119
33	181	30	211	69	85	28	113
34	199**	33	232	70	102	27	129
35	147	26	173	<b>Mín*</b>	61	6	91
36	123	29	152	<b>Máx**</b>	199	64	232
				<b>Média</b>	111,04	31,07	142,17