

# Efeito do armazenamento na energia corporal de juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne incognita* infestados por *Pasteuria penetrans*\*

Fernando da Silva Rocha<sup>1,2</sup>, Vicente Paulo Campos<sup>2</sup>, Renata da Silva Canuto<sup>2</sup>, Ricardo Magela de Souza<sup>2</sup>

\*Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor, apresentada à Universidade Federal de Lavras/UFLA, para a obtenção do título de Doutor.

<sup>1</sup>Bolsista do CNPq; <sup>2</sup>Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, CP 3037, CEP. 37200-000, Lavras, MG, Brasil. e-mail: rochafsplant@yahoo.com.br

Autor para correspondência: Fernando da Silva Rocha rochafsplant@yahoo.com.br

Data de chegada: 10/07/2007. Aceito para publicação em: 23/04/2008.

1504

## RESUMO

Rocha, F. S.; Campos, V. P.; Canuto, R. S.; Souza, R. M. Efeito do armazenamento na energia corporal de juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne incognita* infestados por *Pasteuria penetrans*. *Summa Phytopathologica*, v.35, n.1, p.15-19, 2009

Neste trabalho, objetivou-se estudar o efeito do período de armazenamento no teor de lipídios de juvenis do segundo estágio (J2) de *M. incognita* com endósporos de *P. penetrans* na infectividade e reprodução em tomateiro. Suspensões de *M. incognita* contendo ou não endósporos de *P. penetrans* aderidos à cutícula foram armazenadas por 0, 3, 6, 9 e 12 dias, a 28°C. Após cada período de estocagem, determinou-se a concentração de lipídios neutros corporais por meio da análise de imagem dos J2 coloridos com o corante "Oil Red O". Em seguida, 1.000 J2 foram inoculados em mudas de tomateiros. Após 28 dias, avaliou-se o número de fêmeas parasitadas, número de endósporos/fêmea, número de galhas, massas de ovos e de ovos/g de raiz. O teor de lipídio dos J2 reduziu-se com o aumento do período de estocagem. Porém, maiores perdas ocorreram nos J2 sem endósporos de *P. penetrans*. A proporção entre as perdas dos

J2 com e sem *P. penetrans* foi pequena e decrescente com o período de estocagem. Entretanto, a desproporção foi grande entre 3 e 6 dias de armazenamento dos J2 com e sem *P. penetrans* com relação aos parâmetros reprodução e número de galhas, indicando consumo de fontes alternativas ao lipídio neutro de energia pelo J2 parasitado. Mas o período de armazenamento sempre reduziu a reprodução e número de galhas formadas em tomateiros por J2 com e sem *P. penetrans*. A perda dessas fontes de energia, ao que tudo indica, leva muitos J2 a morrer antes de chegar ao estágio adulto, pois o número de fêmeas parasitadas reduz-se com o armazenamento, além de propiciar menor produção de endósporos por fêmea. O J2 parasitado por *P. penetrans* necessita encontrar rapidamente a raiz e não permanecer no solo por mais de 6 dias antes de parasitar a planta.

**Palavras-chave adicionais:** *Pasteuria penetrans*, controle biológico, lipídios neutros, *Meloidogyne incognita*.

## ABSTRACT

Rocha, F. S.; Campos, V. P.; Canuto, R. S.; Souza, R. M. Effect of storage on body energy of second stage juveniles of *Meloidogyne incognita* infested by *Pasteuria penetrans*. *Summa Phytopathologica*, v.35, n.1, p.15-19, 2009

This work aimed to study the effect of storage period on lipid content of second stage juveniles (J2) of *M. incognita* with endospores of *P. penetrans* on infectivity and reproduction in tomato. Suspensions of *M. incognita* containing or not endospores of *P. penetrans* adhered to cuticle were stored by 0, 3, 6, 9 and 12 days at 28°C. After each storage period, the concentration of neutral lipids in the body of J2 was determined by image analysis of J2 stained with "Oil Red O". After that, 1.000 J2 were inoculated in tomato seedlings. After 28 days, the number of infected females, number of endospores per females, number of galls, number of egg masses and number of eggs per gram of root were evaluated. The lipid content of J2 reduced with the increase of storage period. However, greater loss occurred on J2 without endospores of *P. penetrans*. The ratio

between J2 lipid losses with and without *P. penetrans* was small and decreased with storage period. However, the ratio between J2 with and without *P. penetrans* was greatest between 3 and 6 days of storage in relation to parameters reproduction and number of galls, indicating consumption of alternative energy sources others than neutral lipids by infected J2. But the storage period always reduced the reproduction and number of galls formed in tomatoes by J2 with and without *P. penetrans*. The loss of those energy sources indicate that many J2 die before adult stage, because the number of parasitized females reduced with storage, besides of smaller endospores production per female. The J2 infested by *P. penetrans* needs to find the root quickly and should not stay in the soil for more than 6 days before parasitizing the plant.

**Keywords:** sbiological control, neutral lipids, *Meloidogyne incognita*.

*Pasteuria penetrans* (Thorne) Sayre & Starr é uma bactéria gram-positiva formadora de endósporos imóveis e parasita obrigatória de diversas espécies de fitonematóides (3, 11, 16, 22, 23). O seu potencial como agente para o controle biológico tem merecido maior atenção

para as espécies do gênero *Meloidogyne* (9, 21, 24). O ciclo de vida de *P. penetrans* em *Meloidogyne* spp. consiste na adesão, germinação dos endósporos e na infecção ocorrida no interior do nematóide vivo. A adesão ocorre quando o nematóide movimenta-se no solo e entra em

contato com o endósporo, representando, portanto, uma etapa importante no início do parasitismo. A natureza química da cutícula do juvenil do segundo estágio (J2) é de grande importância para que ocorra a adesão dos endósporos de *P. penetrans* em *Meloidogyne* spp. Assim, alterações na cutícula ou mesmo a morte do nematóide podem afetar o processo de adesão. No solo, a adesão pode sofrer a influência de vários fatores bióticos e abióticos (2, 5, 6, 14, 15, 16, 18, 25, 26).

A aderência do endósporo ao J2 de *Meloidogyne* spp. constitui o início do ciclo de vida da bactéria, além de propiciar a continuação do ciclo através de gerações do nematóide. Por isso, a eficiência de multiplicação e o controle de *Meloidogyne* por *P. penetrans* estão associados a grandes populações de J2 com endósporos aderidos à cutícula em plantas hospedeiras ao nematóide (12, 20, 28, 29). No entanto, altas quantidades de endósporos aderidos reduzem a mobilidade e a penetração do J2 na raiz (5, 7, 13) e, por conseguinte, aumentam sua permanência no solo, podendo interromper o ciclo de vida da bactéria.

Após a eclosão, o J2 de *Meloidogyne* spp. possui reservas energéticas corporais, principalmente na forma lipídica, necessárias para locomoção e infectividade (10, 31). Contudo, no solo, o J2 nem sempre encontra de imediato a raiz no va para o processo de infecção, aguardando a sua formação a partir de raízes mais velhas ou tendo de movimentar-se para encontrá-la. O período em que o J2 permanece no solo, com ou sem endósporos aderidos ao seu corpo ainda não foi bem estudado, principalmente com relação à perda da reserva lipídica corporal, infectividade e reprodução no hospedeiro após algum período à espera ou procura do hospedeiro. Desta forma, objetivou-se, neste trabalho, estudar o efeito do período de armazenamento no teor de lipídios de J2 de *Meloidogyne incognita* com endósporos de *P. penetrans*, na infectividade e reprodução do J2 infectado em tomateiro.

## MATERIALE MÉTODOS

**Preparo das soluções tampões de fosfato de sódio:** Foram preparadas soluções estoques A e B de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  e  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0,2 M, respectivamente. A seguir, adicionaram-se 175 mL da solução A, 75 mL da solução B, completando-se o volume final para um litro com água destilada. Ajustes em pHmetro foram feitos para obtenção da solução tampão na concentração de 0,05M e pH 7,0. Esta solução tampão foi usada para promover uma melhor adesão dos endósporos de *P. penetrans* à cutícula do nematóide.

**Obtenção de mudas de tomateiro:** Sementes de tomateiro, cv. Kada, do grupo Santa Cruz, foram semeadas em bandejas contendo substrato Plantmax e mantidas em casa-de-vegetação. Mudas saudáveis e de tamanho ideal para o transplântio e instalação dos ensaios foram obtidas 40 dias após a semeadura.

**Obtenção dos endósporos de *Pasteuria penetrans*:** Os endósporos de *P. penetrans*, isolado PP<sub>12</sub> originário do município de Ijaci, MG, foram multiplicados em raízes de tomateiros cultivados em vasos ou bandejas mantidos em casa-de-vegetação. As raízes de tomateiro foram separadas do substrato, lavadas em água, cortadas em pedaços de, aproximadamente, 2 centímetros e embebidas por 24 h em solução enzimática composta de 4,0 mL de pectinase-SIGMA (P-9179) e 4,0 g de cellulase-SIGMA (C-1184). A seguir, as raízes foram trituradas em liquidificador por 40 segundos e vertidas em peneira de 0,84 mm sobre peneira de 0,025 mm, coletando-se o material retido nessa última peneira em Erlenmeyer de 2 litros. As fêmeas de *M. incognita* contidas nesse material foram retiradas com o auxílio de um estilete de ponta recurvada e colocadas em tubo de ensaio contendo solução tampão de fosfato de sódio 0,05 M e pH 7,0. Essas fêmeas

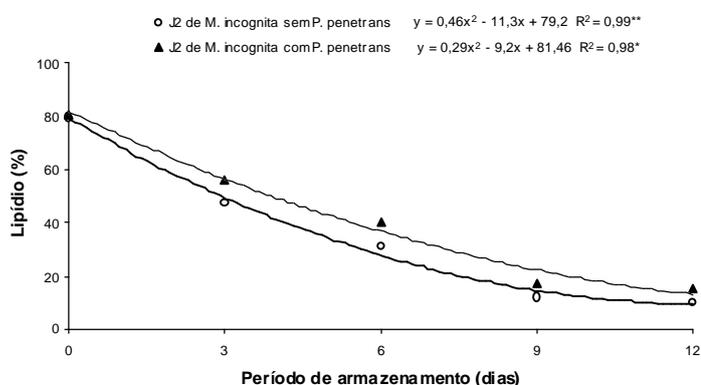
parasitadas por *P. penetrans* foram esmagadas em 2 mL de água destilada, em triturador de tecidos (Pyrex 7727-15) previamente lavado com leite desnatado e enxaguado com água destilada. Esse procedimento foi realizado para todos os recipientes em contato com os endósporos. Essa suspensão de *P. penetrans* foi passada por peneira de 0,028 mm para retirada de restos de fêmeas e/ou ovos, obtendo-se uma suspensão límpida de endósporos quantificada através de câmara de Neubauer e armazenada a 8°C em câmara fria. Essa suspensão foi pré-tratada em sonificador durante 20 min, antes do teste de adesão.

**Obtenção de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*:** Raízes de tomateiros (*L. esculentum* cv. Kada) cultivados em casa-de-vegetação e infestados com *M. incognita*, foram lavadas cuidadosamente e cortadas em pedaços de, aproximadamente, um centímetro. Os ovos foram obtidos conforme técnica de Hussey & Barker (8). Ao final, o material retido na peneira de 0,025 mm foi recolhido com o auxílio de jatos de sacarose (0,5 g/mL), em tubos de plástico de 50 mL. Em seguida, adicionaram-se, aproximadamente, 3 g de caulim nesses tubos, que foram agitados para colocar em suspensão todo o precipitado e, a seguir, centrifugados por 60 s a 680 g. Transcorrido esse tempo, transferiu-se o sobrenadante numa peneira de 0,025 mm, sem agitar o precipitado. Recolheram-se os ovos retidos na peneira em béquer de 200 mL, utilizando-se pisseta contendo água destilada. Em câmara de fluxo laminar, toda a suspensão foi lavada por quatro vezes em água destilada e esterilizada, utilizando-se peneira desinfestada de 0,025 mm e, então, colocada em béquer de vidro esterilizado. Para a obtenção dos J2, utilizou-se câmara de eclosão formada com tela e papel celulose de lenços duplos de 14,8 x 21,5 cm (Klein®), montada em funil de vidro. Foram utilizados no ensaio apenas os J2 obtidos no terceiro dia.

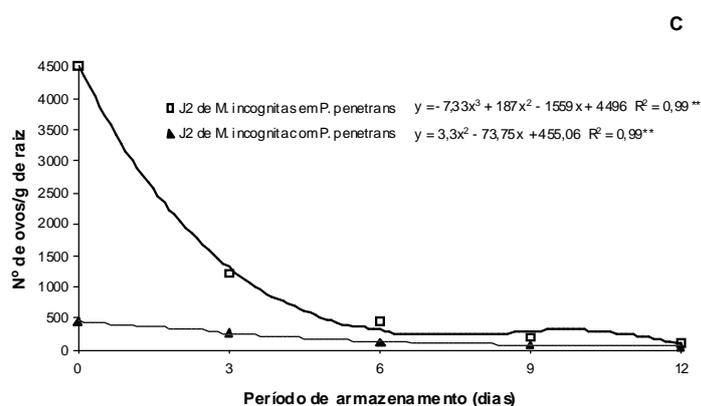
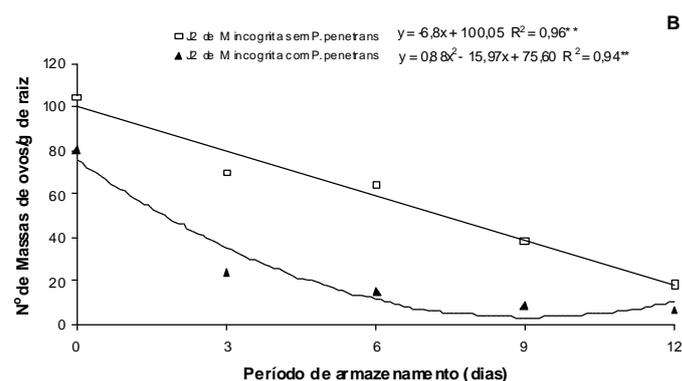
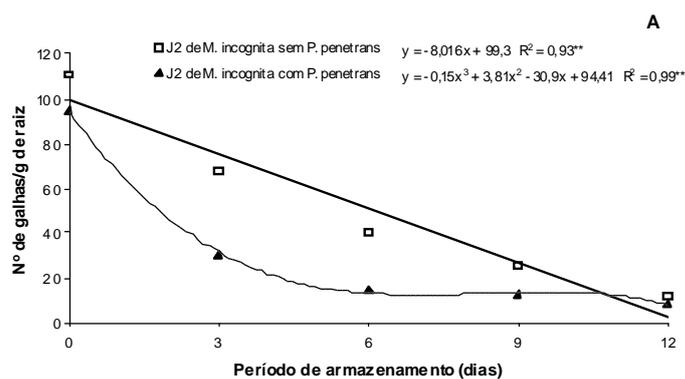
**Instalação e avaliação do ensaio:** Os J2 de *M. incognita* foram vertidos em peneira de 11 mm e recolhidos através de pisseta contendo soluções tampão de fosfato de sódio 0,05 M e pH 7,0 em frascos Erlenmeyer. A seguir, foram quantificados em microscópio de objetivas invertidas e separados em duas porções. Em uma delas, adicionaram-se 4 mL de suspensão de endósporos de *P. penetrans* na concentração de  $4,2 \times 10^6$  endósporos/mL, completando-se o volume final do frasco para 20 mL com solução tampão. Na outra porção, adicionou-se apenas solução tampão, elevando-se a suspensão ao mesmo volume final da porção anterior. Em seguida, os frascos foram acoplados a uma mangueira plástica ligada a uma bomba de aquário para borbulhamento constante, por 24 horas. Ao final desse tempo, o conteúdo de cada frasco foi passado em peneira de 0,025 mm e lavado em água corrente para a retirada dos endósporos não aderidos à cutícula do J2, sendo recolhidos novamente para os frascos de Erlenmeyer. Para a quantificação dos endósporos aderidos, os J2, em número de 20, escolhidos ao acaso, por frasco, foram observados em microscópio de objetivas invertidas, com aumento de 250X, contando-se o número de endósporos aderidos por J2 e o número de J2 com endósporos aderidos para o cálculo de percentagem de adesão. Desta forma, verificou-se que 96% dos J2 tinham, em média, 10 endósporos aderidos à cutícula. De cada frasco, pipetaram-se 2 mL de suspensão para determinar a concentração de lipídios neutros no corpo do J2 antes do armazenamento por meio de análise de imagem (1, 4, 30). Para isto, a suspensão contendo os J2 foi concentrada em 0,5 mL e adicionaram-se 3 mL da solução corante "Oil Red O", seguido de aquecimento em banho-maria, a 60°C, por 20 minutos. Após o resfriamento em temperatura ambiente, os J2 de *M. incognita* foram concentrados novamente em 0,5 mL da solução corante e adicionaram-se 3 mL de glicerina 50%. Em seguida, montaram-se lâminas contendo 20 J2 de *M. incognita* e a partir das fotografias dos J2, utilizou-se o programa

“Image Tool for Windows”, para estimar a área total do corpo do J2 e aquela de coloração vermelha correspondente aos lipídios. Desta forma, a partir da área de coloração vermelha, obteve-se o percentual de lipídios neutros em relação à área total do corpo dos J2 de *M. incognita*.

As suspensões foram calibradas em 1.000 J2 com ou sem endósporos/mL e armazenadas em estufa incubadora (B.O.D.), a 28°C, por 3, 6, 9 e 12 dias em água parada. Nesse momento, os J2 recentemente eclodidos foram inoculados em tomateiro servido de testemunha. De cada período de armazenamento, obtiveram-se 2 mL da suspensão e, nos J2, fez-se a coloração de lipídios neutros após o armazenamento com o corante “Oil Red O”, já descrito, e estimou-se o percentual médio de lipídios neutros do corpo do J2, obtendo-se, assim, o valor de lipídio no momento da inoculação em cada período de inoculação. A seguir, 1.000 J2 de *M. incognita*, contendo ou não endósporos de *P. penetrans* aderidos, foram inoculados em mudas de tomateiro plantadas em copos plásticos de 300 mL de volume, com substrato formado de solo e areia, na proporção 1:1. Para a inoculação, os J2 foram dispersos em 4 mL de água e dispersados em 4 furos de  $\pm 3$  cm de profundidade ao redor das mudas. Os copos foram colocados em sala climatizada com temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 14 h de luz e mantidos nessas condições durante 28 dias. Ao final desse tempo, cortou-se a parte aérea dos tomateiros e retirou-se o sistema radicular do solo em água parada. Para a quantificação do número de fêmeas parasitadas e do número de endósporos/fêmea, 80 delas, escolhidas ao acaso, foram retiradas com estilete de ponta fina. Quarenta delas foram esmagadas em lâminas de vidro contendo água destilada, sob lamínula, contando-se em microscópio de objetivas invertidas, aumento de 500X, o número de fêmeas parasitadas e consideraram-se parasitadas todas aquelas com endósporos encontrados no seu interior. As demais 40 fêmeas de cada tratamento foram esmagadas em lâminas escavadas contendo 1 mL de água destilada e, em seguida, essa suspensão foi transferida para uma câmara de Neubauer para a quantificação do número de endósporos/fêmea. A seguir, as massas de ovos dos nematóides nos sistemas radiculares foram coloridas de vermelho em solução contendo corante artificial empregado na fabricação de sucos, conforme técnica de Rocha *et al.* (19). Após a coloração, as raízes foram deixadas sobre papel-toalha por 10 minutos, possibilitando, assim, a avaliação do peso da matéria fresca das raízes, seguida da contagem do número de massas de ovos e de galhas por sistema radicular. Para a quantificação do número de ovos por sistema radicular, as raízes foram cortadas em pedaços de, aproximadamente,



**Figura 1.** Percentagem de lipídios neutros de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*, contendo ou não endósporos de *Pasteuria penetrans*, aderidos à cutícula e armazenados em água parada, a 28°C, por diferentes períodos.



**Figura 2.** Efeito do período de armazenamento em água parada, a 28°C, de juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne incognita*, contendo ou não endósporos de *Pasteuria penetrans*, na infectividade e na reprodução do nematóide. A) número de galhas/g de raiz de tomateiro, B) número de massas de ovos/g de raiz de tomateiro, C) número de ovos/g de raiz de tomateiro.

2 cm de comprimento e os ovos obtidos pela técnica de Hussey & Barker (8). Em microscópio de objetivas invertidas, quantificou-se o número de ovos de *M. incognita* por sistema radicular.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com 6 repetições. Os dados obtidos foram transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$  para análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises de variância foram realizadas pelo programa estatístico Sisvar e as variáveis significativas, pelo teste F, foram submetidas à análise de regressão para ajuste do melhor modelo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor lipídico dos J2 de *M. incognita* reduziu-se com o aumento do período de estocagem a 28°C, apresentando maior perda lipídica aqueles J2 sem endósporo de *P. penetrans* aderidos à cutícula (Figura 1). A taxa de perda de lipídios neutros dos J2 estocados sem endósporos aderidos foi de 40, 61 e 85% em relação ao nível original aos 3, 6 e 9 dias, respectivamente, enquanto naqueles contendo endósporos de *P. penetrans* essa perda foi de 29, 49 e 79% nos mesmos períodos de estocagem, cuja proporção entre eles foi pequena e decrescente (1,38; 1,24 e 1,07).

Os J2 de *M. incognita* com endósporos de *P. penetrans* aderidos ao corpo e imediatamente inoculados em tomateiros induziram a formação de galhas em quantidades semelhantes àqueles sem *P. penetrans* (Figura 2A). Entretanto, a produção de massa de ovos foi reduzida em 23% nos tomateiros infectados por J2 com endósporos, sendo ainda maior a queda no número de ovos nas raízes do tomateiro infectados por J2 com endósporos de *P. penetrans*, chegando a 89% de redução (Figuras 2B e C).

Com o armazenamento e posterior inoculação em tomateiros de J2 com e sem endósporos ocorreu redução no número de galhas, massas de ovos e ovos por grama de raiz, porém em intensidades diferentes entre eles. As maiores quedas no número de galhas e de massas de ovos de *M. incognita* resultantes da infecção de tomateiros por J2 com endósporos ocorreram entre os períodos de 3 e 6 dias de armazenamento, enquanto que na produção de ovos/g de raiz a maior queda foi nos primeiros 3 dias de armazenamento do J2 com endósporos. A partir do 6º dia as diferenças entre o número de galhas, massas de ovos e ovos/g de raiz em tomateiros infectados por J2 com e sem endósporos diminuem e chegam a se igualarem no final do ensaio, porém em níveis bem baixos (Figuras 2 A, B e C), criando desproporção bem maior do que a observada na curva energética dos lipídios neutros (Figura 1). O parasitismo das fêmeas por *P. penetrans* e o número de endósporos produzidos por fêmea de *M. incognita* foram significativamente reduzidos com o armazenamento dos J2 infestados chegando a zero a partir de 9 dias de armazenamento (Tabela 1).

A maior preservação da reserva lipídica corporal do J2 com endósporo de *P. penetrans*, comparado com aquele sem endósporos (Figura 1), ao que tudo indica, está relacionada ao movimento mais lento dos J2 infestados com endósporos da bactéria. Stirling *et al.* (27) e Davies *et al.* (5) encontraram movimentação menor dos J2 contendo 7 endósporos de *P. penetrans* em relação àqueles não infestados. Embora ocorra a preservação da reserva lipídica pelos J2 infestados com endósporos, de acordo com os dados aqui apresentados, o armazenamento sempre reduziu mais a infectividade e a reprodução dos J2 parasitados, em relação aos não parasitados, em qualquer período de tempo (Figura 2). Desta forma, o J2 parasitado necessita encontrar rapidamente a raiz e não permanecer no solo por mais de 6 dias. Campos (1) verificou perda de 38,82 e 56,12% no lipídio corporal de J2 de *M. javanica* a partir do segundo e quarto dias de armazenamento dos J2 em água parada a 28°C, o que refletiu em redução de 44,64% na produção de ovos e 73,68% no número de fêmeas, respectivamente. Van Gundy *et al.* (31) verificaram que o armazenamento de J2 de *M. javanica*, a 25°C, por 4 dias, causou perda lipídica de 41,33%, porém não afetou a mobilidade dos J2.

Dois patossistemas estão envolvidos nesses ensaios, isto é, *M. incognita*-tomateiro e *P. penetrans*-*M. incognita*, além de três processos competidores por energia de *M. incognita* como: armazenamento do J2 em água a temperatura de 28°C, infectividade do J2 por *P. penetrans*

**Tabela 1.** Efeito do período de armazenamento de juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne incognita* com endósporos de *Pasteuria penetrans* aderidos à cutícula no parasitismo e na produção de endósporos por fêmeas.

Tratamentos	Fêmeas parasitadas (%)	Nº de endósporos/ fêmea
0 dia	80 a	4,68 x 10 <sup>5</sup> a
3 dias	45 b	3,0 x 10 <sup>3</sup> b
6 dias	12 b	1,25 x 10 <sup>2</sup> b
9 dias	0 c	0 b
12 dias	0 c	0 b
CV (%)	12,34	40,80

Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

e reprodução da fêmea infectada. A reprodução em qualquer processo biológico constitui o maior dreno em energia. Nos fitonematóides de elevada produção de ovos como nos nematóides de galhas e do cisto as fêmeas morrem no final da postura. O armazenamento de J2 em temperaturas altas leva a redução do nível de lipídio corporal (4, 10, 31). Entretanto, o terceiro processo chamado aqui de competidor de energia, qual seja a infectividade de *P. penetrans* em *M. incognita*, não compete por energia nos primeiros eventos do parasitismo do J2 pela bactéria como ocorre quando o J2 com endósporos é armazenado em água, pois, o teor de lipídio neutro é maior no J2 com endósporo comparado com o J2 não infestado (Figura 1). Contudo, a redução no número de galhas em tomateiro pelo J2 infestado por *P. penetrans* e armazenado foi maior comparado com J2 não infestado e armazenado pelo mesmo período (Figura 2A). Desta forma, outras fontes alternativas de energia, além dos lipídios neutros, foram exauridas pelo J2 infestado por *P. penetrans* durante o armazenamento e, portanto, reduzindo a infectividade e reprodução dos J2 parasitados por *P. penetrans* em tomateiro (Figuras 2A, B e C). Lee & Atkinson (10) e Qiu & Bedding (17) relataram que os órgãos aparentemente sem lipídio podem obter energia por meio de outras fontes alternativas aos lipídios neutros como glicogênio e trealose. Van Gundy *et al.* (31) relataram o uso de lipídios neutros e proteínas como fontes de energia de J2 de *M. javanica*. A perda dessas fontes de energia, ao que tudo indica, leva muitos J2 a morrerem antes de chegar ao estágio adulto, pois o número de fêmeas parasitadas reduz-se com o armazenamento, além de propiciar a menor produção de endósporos (Tabela 1).

O cultivo “in vitro” de *P. penetrans* talvez possa explicar o papel dessas substâncias no crescimento e reprodução dessa bactéria. Então, para maior sucesso do parasitismo e reprodução de *P. penetrans* em *M. incognita*, o J2 infestado precisa imediatamente parasitar a planta e o retardamento por 6 dias leva a morte do J2 parasitado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Campos, H. D. Aspectos do parasitismo e da privação alimentar do nematóide de galhas (*Meloidogyne javanica*) e do cisto (*Heterodera glycines*) em soja. 2003. 203f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
2. Campos, V. P.; Souza, J. T. de; Souza, R. M. de. Controle de fitonematóides por meio de bactérias. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.6, p.285-327, 1998.
3. Chen, Z.X.; Dickson, D.W. Review of *Pasteuria penetrans*: Biology, Ecology, and Biological Control Potential. **Journal of Nematology**, Lawrence, v.30, p.313-340, 1998.
4. Christophers, A.E.P.; Patel, M.N.; Benson, J.A.; Saka, V.W.; Evans, A.A.F.; Wright, D.J. A rapid field-laboratory bioassay to assess the infectivity of *Meloidogyne* spp. second stage juveniles. **Nematologica**, Leiden, v.43, n.1, p.117-120, 1997.

5. Davies, K. G.; Laird, V. E.; Kerry, B. R. The mobility, development and infection of *Meloidogyne incognita* encumbered with spores of the obligate hyperparasite *Pasteuria penetrans*. **Revue de Nématologie**, Montrouge Cedex, v. 14, n. 4, p. 611-618, 1991.
6. Freitas, L.G.; Dickson, D.W.; Mitchell, D.J.; Hewlett, T.E. Infectivity and suppression of *Pasteuria penetrans* to *Meloidogyne arenaria* race 1 in tomato following soil fumigation. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.24, n.2, p.157-166, 2000.
7. Gomes, C. B.; Freitas, L.G.; Ferraz, S.; Oliveira, R.D.L.; Osório, V.A. Efeito do número de endósporos de *Pasteuria penetrans* e do método de promoção da adesão sobre a penetração de *Meloidogyne javanica* e produção da bactéria em tomateiro. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.26, n.2, p.119-130, 2002.
8. Hussey, R. S.; Barker, K.R. A comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp including a new technique. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v.57, n.12, p.1025-1028, 1973.
9. Jalata, P. Biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.24, p.453-489, 1986.
10. Lee, D.L.; Atkinson, H.J. **Physiology of nematodes**. New York: Columbia University Press, 1977. 215p.
11. Mankau, R. *Bacillus pentrans* n. comb. Causing a virulent disease of plant parasitic nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v.26, n.3, p.333-339, 1975.
12. Mankau, R. Biological control of nematodes pests by natural enemies. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.18, p.415-440, 1980.
13. Mateille, T.; Duponnis, R.; Dabiré, K.; N'Diayes, S.; Diop, M.T. Influence of abiotic soil factors and the host plant on the infection of phytoparasitic nematodes of the genus *Meloidogyne* by *Pasteuria penetrans*. **European Journal Soil Biology**, Paris, v.32, n.2, p.81-83, 1996.
14. Mateille, T.; Duponnois, R.; Dabiré, K.; N'Diayes, S.; Diop, M. T. Influence of the soil on the transport of the spores of *Pasteuria penetrans*, parasite of nematodes of the genus *Meloidogyne*. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 32, n. 2, p. 81-88. 1996.
15. Maximiano, C.; Campos, V.P.; Souza, R.M. de.; Almeida, A.R. de. Efeito do pH e filtrados bacterianos na adesão de endósporos de *Pasteuria penetrans*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.25, n.1, p.21-26, 2001.
16. Oostendorp, M.; Dickson, D. W.; Mitchell, D. J. Host range and ecology of isolates of *Pasteuria* spp. from the southeastern United States. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 22, n. 4, p. 525-531. 1990.
17. Qiu, L.; Bedding, R. A. Energy metabolism and survival of the infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* under oxygen-deficient conditions. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 32, n. 3, p. 271-280, 2000.
18. Rocha, F.S.; Campos, V.P. Efeito de filtrados fúngicos na adesão de endósporos de *Pasteuria penetrans* e na infectividade e parasitismo de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.24, n.2, p.239-244, 2000.
19. Rocha, F.S.; Muniz, M.F.S.; Campos, V. P. Coloração de fitonematóides com corantes usados na indústria alimentícia brasileira. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.2, p.293-297, 2005.
20. Sharma, R.D.; Stirling, G.R. *In vivo* mass production systems for *Pasteuria penetrans*. **Nematologica**, Leiden, v.37, p.483-485, 1991.
21. Souza, J. T. de; Campos, V. P. Efeito do isolado P1-UFLA de *Pasteuria penetrans* sobre a primeira geração de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 93-102, 1997.
22. Souza, J.T. de.; Souza, R.M.; Campos, V.P. Ocorrência e flutuação populacional de *Pasteuria* spp. em Minas Gerais. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, p.41-51, 1996.
23. Spaul, V.W. Observations on *Bacillus penetrans* infecting *Meloidogyne* in sugarcane fields in South Africa. **Revue de Nématologie**, Montrouge Cedex, v.7, n.3, p.277-282, 1984.
24. Stirling, G. R. Biological control of *Meloidogyne javanica* with *Bacillus penetrans*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 74, n. 1, p. 55-60, 1984.
25. Stirling, G. R. **Biological control of plant-parasitic nematodes: progress, problems and prospects**. Melksham: Redwood Press, 1991. 282 p.
26. Stirling, G.R. Effect of temperature on infection of *Meloidogyne javanica* by *Bacillus penetrans*. **Nematologica**, Leiden, v.27, n.4, p.458-462, 1981.
27. Stirling, G.R.; Sharma, R.D.; Perry, J. Attachment of *Pasteuria penetrans* to the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in soil and its effects on infectivity. **Nematologica**, Leiden, v.36, p.246-252, 1990.
28. Stirling, G.R.; Wachtel, M.F. Mass production of *Bacillus penetrans* for the biological control of root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in soil and its effect on infectivity. **Nematologica**, Leiden, v.26, n.3, p.308-312, 1980.
29. Stirling, G.R.; White, A. M. Distribution of a parasite of root-knot nematodes in South Australia vineyards. **Plant Disease**, v.66, n.1, p.52-53, 1982.
30. Storey, R.M.J. The initial neutral lipid reserves of juveniles of *Globodera* spp. **Nematologica**, Leiden, v.29, p.144-150, 1983.
31. Van Gundy, S. D.; Bird, A. F.; Wallace, H. R. Aging and starvation in juveniles of *Meloidogyne javanica* and *Tylenchulus semipenetrans*. **Phytopathology**, St. Paul, v.57, p.559-571, 1967.