



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL  
DE PERNAMBUCO**  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM FITOPATOLOGIA**

**Tese de Doutorado**

**Comportamento de genótipos RB de cana-de-açúcar a nematoide  
das galhas e avaliação dos mecanismos de resistência envolvidos**

**Matheus Silva e Silva**

**Recife - PE  
2015**

**MATHEUS SILVA E SILVA**

**COMPORTAMENTO DE GENÓTIPOS RB DE CANA-DE-AÇÚCAR A  
NEMATOIDE DAS GALHAS E AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS DE  
RESISTÊNCIA ENVOLVIDOS**

**RECIFE-PE  
JULHO – 2015**

**MATHEUS SILVA E SILVA**

**COMPORTAMENTO DE GENÓTIPOS RB DE CANA-DE-AÇÚCAR A  
NEMATOIDE DAS GALHAS E AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS DE  
RESISTÊNCIA ENVOLVIDOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Fitopatologia.

**COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:**

Orientador(a): Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elvira Maria Régis Pedrosa

Co-Orientador(a): Dr.<sup>a</sup> Sandra Roberta Vaz Lira Maranhão

**RECIFE-PE  
JULHO – 2015**

**COMPORTAMENTO DE GENÓTIPOS RB DE CANA-DE-AÇÚCAR A  
NEMATOIDE DAS GALHAS E AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS DE  
RESISTÊNCIA ENVOLVIDOS**

**MATHEUS SILVA E SILVA**

Tese defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 31/07/2015

**ORIENTADOR(A):**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elvira Maria Régis Pedrosa (UFRPE)

**EXAMINADORES:**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Andréa Chaves (EECA/UFRPE)

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Andréa Cristina Baltar Barros (UNINASSAU)

---

Dr. Nelson Bernardi Lima (UFRPE)

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elineide Barbosa de Souza (UFRPE)

**RECIFE-PE  
JULHO – 2015**

A Deus

**OFEREÇO**

Aos meus pais, Wilson da Silva e Ester Bispo da Silva e  
Silva, a minha irmã Emanuela Silva e Silva e a  
todos o integrantes da minha família.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que é a base de todas as coisas;

Aos meus pais e a minha irmã que sempre acreditaram e incentivaram na busca desse sonho;

A todos os integrantes da minha família que sempre estiveram na torcida;

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pela formação oferecida através do curso de Doutorado em Fitopatologia;

A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elvira Maria Régis Pedrosa, pela amizade, dedicação, orientação, conselhos e constante apoio;

A Dr.<sup>a</sup> Sandra Maranhão e a Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lilian Guimarães pela amizade e constante incentivo;

A minha namorada e futura esposa, Moara Alexandrino Bandeira, por todos os momentos que vivemos juntos, pela constante presença na minha vida e pela oportunidade de conhecer a pessoa maravilhosa que ela é;

A todos os integrantes do laboratório de Fitonematologia da UFRPE, Alain Dennis, Carmem Abade, Patrícia Ângelo, Mércia Cardoso, Luana Maria, Mariana Ferreira (a quem devo uma caixa de jujuba), Rossana Batista, Lílian Palhares, Douglas Castro, Stan, Thaís Fernanda, Marcela Andrade, Héverton Cauás, Diêgo Huggins, Ana Karina, Rezânio Mendes, Káthia Raquel, Maurício, Natália Monique.

Aos funcionários Sr. Luiz Coelho e Sr. Luiz pela amizade, pelo apoio concedido e por ter ajudado em todas as etapas de execução do experimento em casa de vegetação, sem nunca ter medido esforços. Muito obrigado! Jamais esquecerei toda ajuda recebida!

A funcionária Darci Martins pelos momentos de descontração na hora do lanche;

A todos os meus amigos da Fitossanidade;

A todos os professores pertencentes ao programa de Pós-graduação em Fitopatologia;

Aos órgãos de fomento FACEPE e CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
AGRADECIMENTOS.....	vi
RESUMO GERAL.....	viii
GENERAL ABSTRACT.....	ix
CAPÍTULO I – Introdução Geral.....	2
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	14
CAPÍTULO II - Comportamento de clones e variedades RB de cana-de-açúcar em relação ao parasitismo dos nematoides das galhas.....	24
RESUMO.....	25
ABSTRACT.....	26
INTRODUÇÃO.....	26
MATERIAL E MÉTODOS.....	28
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
CONCLUSÕES.....	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
CAPÍTULO III - Penetração, desenvolvimento e reprodução de nematoides das galhas em cana-de-açúcar.....	39
ABSTRACT.....	40
RESUMO.....	41
INTRODUÇÃO.....	42
MATERIAL E MÉTODOS.....	44
RESULTADOS.....	46
DISCUSSÃO.....	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
CAPÍTULO IV – Conclusões gerais.....	60

## RESUMO GERAL

De relevante importância econômica para o Brasil, o cultivo da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) sofre grande influência de diversos fatores bióticos e abióticos. Dentre os bióticos, destacam-se os danos causados por espécies de *Meloidogyne*, devido às lesões nas raízes parasitadas, resultando em redução de produtividade. A não disponibilidade de variedades resistentes aos nematoides das galhas tornou-se mais séria com a redução do uso de nematicidas, intensificando os esforços para tornar a resistência varietal uma alternativa possível. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi selecionar genótipos RB de cana-de-açúcar promissores para o desenvolvimento de variedades resistentes a *M. incognita* e *M. javanica* (Estudo 1) e determinar os mecanismos de resistência avaliando-se a penetração, desenvolvimento e reprodução das espécies de nematoides no material selecionado (Estudo 2), em condições de casa de vegetação. No estudo 1, as avaliações foram realizadas 120 dias após a inoculação com 9000 ovos por planta e fundamentaram-se no desenvolvimento do hospedeiro e na reprodução dos nematoides. Houve diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre os genótipos RB para todas as variáveis de desenvolvimento da planta, e para ambas as espécies de *Meloidogyne*. Todos os genótipos foram suscetíveis ( $FR \geq 1,0$ ) à *M. incognita* e *M. javanica*, entretanto, em alguns o fator de reprodução foi inferior ao do tratamento controle. No Estudo 2, cinco genótipos foram inoculados com 20.000 ovos por planta e as avaliações realizadas aos 5, 10, 15, 20, 40 e 60 dias após a inoculação. Houve diferença entre os genótipos avaliados com relação à penetração de juvenis de segundo estágio. Cinco dias após a inoculação foi visualizado juvenis no interior das raízes de todos os tratamentos, mas o desenvolvimento dos nematoides diferiu significativamente entre os clones. Aos 45 dias após a inoculação não foi evidenciada a presença de ovos em nenhum dos genótipos testados, o que só ocorreu aos 60 dias após a inoculação. Reduzidas taxas de penetração e desenvolvimento foram demonstradas pelos genótipos RB 041594 e RB071095.

Palavras chave: *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, Resistência, *Saccharum*

## GENERAL ABSTRACT

One of the most economic importance crops in Brazil, the sugarcane (*Saccharum* spp.) cultivation is severely affected by several biotic and abiotic factors. Within the biotic one the damage caused by *Meloidogyne* species points out due to lesions in parasite roots resulting in decreases of productivity. The non-availability of root-knot nematode resistant varieties becomes more serious after reduction in nematicides use, increasing efforts in turn resistant varieties a possible alternative. Therefore, the objectives of the present work was screening promising sugarcane genotypes for *M. incognita* and *M. javanica* resistance (Study 1) and determine the resistance mechanisms involved through evaluation of penetration, development and reproduction of the nematodes in the selected material (Study 2), under greenhouse. In Study 1, evaluations were carried out 120 days after inoculation with 9000 eggs per plant and based on host development and nematode reproduction. There was significant difference ( $P \leq 0.05$ ) within genotypes for all plant development and nematode reproduction variables. Although all genotypes were susceptible ( $FR \geq 1.0$ ) to *M. incognita* and *M. javanica*, in some of them the reproductive factor (FR) was lower than the control. In Study 2, five genotypes were inoculated with 20000 eggs per plant and evaluations carried out at 5, 10, 15, 20, 40 and 60 days after inoculation. There was difference in nematode penetration among genotypes, and despite juveniles of both nematode species penetrated all genotypes at five days after inoculation, nematode development significantly differed among clones. At 60, but 45, days after inoculation eggs were evident in the genotypes. Reduced penetration and development rates were demonstrate by the genotypes RB041594 e RB071095.

Keywords: *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, Resistance, *Saccharum*

# Capítulo I

---

---

## Introdução Geral

# COMPORTAMENTO DE GENÓTIPOS RB DE CANA-DE-AÇÚCAR EM RELAÇÃO AOS NEMATÓIDES DAS GALHAS E AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA ENVOLVIDOS

## INTRODUÇÃO GERAL

### **Cana-de-açúcar: origem, características e importância econômica.**

O gênero *Saccharum* provavelmente se originou antes de os continentes assumirem as formas e locais atuais, possivelmente, devido a isso, existam inúmeras hipóteses sobre o centro de origem da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. L.), sendo o mesmo desconhecido. Existem suposições que os indianos extraíram e produziram o açúcar mascavo pela primeira vez (SILVA, 2009). Entretanto, é possível que a planta seja nativa do Pacífico, talvez de Papua, Nova Guiné, onde já era conhecida há cerca de 12 mil anos (GOMES, 2006). Existem relatos que a cana-de-açúcar possua como origem o sudeste asiático, mais precisamente na Índia, posteriormente sendo levada à costa oriental do mediterrâneo (CASCUDO, 1971; FREYRE, 1987; ANDRADE, 2004).

As primeiras plantas de cana-de-açúcar foram trazidas pelos portugueses para a ilha da Madeira, onde o cultivo foi estabelecido por volta de 1515. O primeiro engenho de cana-de-açúcar, criado em 1532, por Martim Afonso de Souza, foi denominado como engenho de São Vicente. A cultura da cana-de-açúcar tem sido relevante para a economia brasileira desde o início do século XVI (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011). No final do séc. XVI, duas outras áreas, destacaram-se como produtoras açucareiras, Bahia e Pernambuco (BASTOS, 1987).

A cana-de-açúcar é uma planta semiperene, e pertence a uma das maiores famílias de angiospermas, a Poaceae, a qual inclui espécies importantes na alimentação humana (SOUZA et al., 2005). São citadas cinco espécies de *Saccharum*: *S. officinarum* (“canas nobres”), *S. sinense* (canas chinesas ou japonesas), *S. barberi* (canas indianas) *S. spontaneum* (canas selvagens) e *S. robustum* (usada como cerca-viva) (MOZAMBANI et al., 2006). Durante algum tempo, a principal espécie cultivada foi *S. officinarum*, mas, devido a algumas limitações inerentes a problemas de adaptação ecológica e suscetibilidade a pragas agrícolas, reduzindo severamente a produtividade, essa espécie começou a cair em desuso

(TERAMOTO, 2003). Atualmente as plantas de cana cultivadas são híbridos derivados de cruzamentos, principalmente entre as espécies *S. officinarum* e *S. spontaneum* (DILLON et al. 2007).

A cana-de-açúcar é cultivada em todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo, nos hemisférios norte e sul, até aproximadamente 35°N e 35°S (VAN DILLEWIJN, 1952; GOMES; LIMA, 1964). Como resultado dessa ampla faixa, a cana é submetida a diferentes tipos de solo, sob ação de diversos fatores bióticos e abióticos, culminando em diferentes níveis de produção (MAULE; MAZZA; MARTHA JÚNIOR, 2001).

A planta desenvolve-se em forma de touceira, sendo a parte aérea constituída por colmos, folhas, inflorescências e, a parte subterrânea, por raízes e rizomas. O sistema radicular é fasciculado e os rizomas são compostos por nódios, internódios e gemas, que são as responsáveis pela formação dos perfilhos na touceira. A sustentação das folhas e inflorescências é feita pelo colmo, que é caracterizado por nós bem visíveis e entrenós distintos (LUCCHESI, 2001; MOZAMBANI et al., 2006).

A cana-de-açúcar possui metabolismo fotossintético C4, ou seja, é considerada altamente eficiente na conversão de energia oriunda da radiação solar em energia química. Além disso, as plantas C4 possuem um mecanismo que diminui a perda de água em ambientes secos (ALENCAR, 2012). Embora adaptada às condições de altas temperaturas e baixos potenciais hídricos, a cultura necessita de grandes quantidades de água, uma vez que para a produção de uma parte de matéria seca são necessárias 250 partes de água (ENDRES et al., 2010). Desse modo, para manter índices de produção satisfatórios, a cultura necessita de período quente e úmido, com intensa radiação solar durante o estágio vegetativo, seguido de período seco na fase de maturação e colheita (ALFONSI et al., 1987).

O cultivo da cana-de-açúcar possui grande importância econômica, pois além de produzir açúcar para consumo interno e exportação, é também usada para a produção de álcool. O Brasil é o maior produtor mundial de açúcar e etanol derivado da cana, assim como também é o maior detentor de áreas cultivadas com a cana-de-açúcar (CONAB, 2015). Representa a segunda cultura mais importante para o agronegócio brasileiro, sendo o setor sucroalcooleiro responsável por aproximadamente 2% do PIB nacional e por 31% do PIB da agricultura no Brasil, tendo empregado cerca de 4,5 milhões de pessoas (PROCANA, 2012).

No Brasil, o cultivo da cana-de-açúcar é concentrado na região Sudeste, respondendo por aproximadamente 70% da produção nacional (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011). Em 2014/2015 a produção total de cana-de-açúcar moída foi de 634,8 milhões de

toneladas e, a área cultivada colhida e destinada à atividade sucroalcooleira foi de 9.004,5 mil hectares, distribuídas em todos estados produtores. Dentre os Estados produtores, São Paulo permanece como o maior produtor com 52% (4.685.700 hectares) da área plantada, seguido por Goiás com 9,5% (854,2 mil hectares), Minas Gerais com 8,9% (805,5 mil hectares), Mato Grosso do Sul com 7,4% (668,3 mil hectares), Paraná com 7,1% (635 mil hectares), Alagoas com 4,3% (385,3 mil hectares) e Pernambuco com 2,9% (260,1 mil hectares). Os outros dezesseis estados produtores possuem áreas menores, com representações abaixo de 2,5%, totalizando 8% da área total do país (CONAB, 2015).

Segundo levantamento do IBGE (2012), analisando a produção de cana-de-açúcar, em todas as unidades sucroalcooleiras com produção efetiva, constatou-se que a cultura continua em expansão no Brasil. Dentre as variedades de cana-de-açúcar disponíveis, a RB867515, tem sido a mais cultivada, devido a sua adaptabilidade e estabilidade ambiental, boa produtividade de açúcar e resistência a algumas pragas e doenças que atacam a cultura.

### **Doenças da cana-de-açúcar**

Existem inúmeras doenças associadas ao cultivo de cana-de-açúcar ao redor do mundo. Dentre os principais agentes etiológicos que causam prejuízos aos canaviais, podem ser citados: os vírus, as bactérias, os fungos e os nematoides.

Entre as principais doenças causadas por patógenos que atacam o cultivo, estão as causadas por vírus: mosaico (*Sugarcane mosaic virus* – SCMV); doenças causadas por bactérias: escaldadura das folhas (*Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson); raquitismo das soqueiras (*Leifsonia xyli* subsp. *xyli* Davis); doenças causadas por fungos: ferrugem marrom (*Puccinia melanocephala* Syd. e P. Syd.); ferrugem alaranjada (*Puccinia kuehnii* (Kruger) Buttler); carvão (*Sporosorium scitamineum* (Syd.) Piepenbr e Oberw.); podridão vermelha (*Colletotrichum falcatum* Went); podridão abacaxi – *Ceratocystis paradoxa* (Dade) Moreau (*Thielaviopsis paradoxa* (De Seynes) Höhn); e as doenças causadas por nematoides: meloidoginose (*Meloidogyne incognita* (Kofoid e White) Chitwood e *M. javanica* (Treub) Chitwood) e pratilencose (*Pratylenchus zae* Graham e *P. brachyurus* (Godfrey) Filipjev e S. Stekhoven); existe também a síndrome do amarelecimento foliar - que pode ser causado pelo vírus (Sugarcane yellow leaf vírus – ScYLV) e/ou pelo fitoplasma; (MACCHERONI; MATSUOKA, 2006).

As doenças citadas apresentam sintomas na parte aérea ou no sistema radicular da cana-de-açúcar, reduzindo drasticamente o desenvolvimento da planta e, conseqüentemente, a produção. Dentre as medidas de manejo, a resistência varietal é a ferramenta mais utilizada no manejo das principais doenças que acometem a cana-de-açúcar, entretanto, a resistência não é absoluta. Muitas variedades apresentam suscetibilidade à determinada doença, tornando-se necessárias práticas de manejo, com intuito de minimizar os prejuízos causados.

### **Fitonematoides**

Em muitos países de climas tropicais e subtropicais, a cana-de-açúcar é a principal espécie cultivada de importância econômica. Entretanto, por ser um monocultivo e em muitas regiões produtoras, o cultivo ser feito em solos degradados, com elevado teor de areia, problemas com fitonematoides são comuns (SEVERINO; DIAS-ARIEIRA; TESSMAN, 2010).

Os fitonematoides são parasitos obrigados, que obtêm nutrientes para o desenvolvimento e reprodução apenas do citoplasma de células vivas (HUSSEY; GRUNDLER, 1998). Possuem o formato vermiforme e geralmente parasitam as raízes das plantas, causando grandes danos ao sistema radicular, comprometendo a absorção de água e nutrientes, tornando-o deficiente e pouco produtivo.

Mais de 310 espécies de 48 gêneros de nematoides ecto e endoparasitos associados as raízes e a rizosfera foram verificados em cana-de-açúcar (CADET; SPAULL, 2005), e determinadas espécies ganham destaque por causarem redução na produtividade, dentre as quais estão os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) e das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.).

Estudos relativos a patogenicidade dos ectoparasitas associados à cana-de-açúcar ainda são escassos, apesar de existirem estudos evidenciando associações constantes entre canaviais e alguns nematoides como: *Helicotylenchus*, *Paratrichodorus*, *Trichodorus*, *Tylenchorhynchus*, *Hemicyclophora*, *Xiphinema* e *Mesocriconema* (MOURA, 2000). No Brasil, o primeiro relato de fitonematoides em cana-de-açúcar, ocorreu em 1962, no estado de São Paulo, e as espécies relatadas pertenciam aos gêneros *Helicotylenchus* e *Trichodorus* (BRIEGER, 1962).

Na região Nordeste do Brasil os principais fitonematoides associados aos canaviais, tidas com as mais importantes economicamente, devido aos danos causados são: *M. incognita*, *M. javanica* e *P. zaeae* (MOURA et al., 2000).

### ***Meloidogyne* spp.**

O primeiro relato de infecção de plantas por nematoides das galhas foi feito por Berkeley, em 1855, na Inglaterra, ao evidenciar nódulos em raízes de pepino cultivado em casa de vegetação (MOURA, 1996). O gênero *Meloidogyne* Goeldi foi identificado pela primeira vez 1887 parasitando raízes de cafeeiro no Brasil (GOELDI, 1887). O nome *Meloidogyne* é de origem grega, significando “fêmea com formato de pêra”.

Dentre os fitonematoides de importância econômica, as espécies pertencentes ao gênero *Meloidogyne* estão entre as mais importantes do mundo (SASSER; FRECKMAN, 1987). Essa importância está associada ao fato dos nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) representarem um dos gêneros mais polífagos e prejudiciais aos mais diversos cultivos. Os mesmo são endoparasitos biotróficos que possuem a capacidade de infectar praticamente qualquer planta superior e possuem distribuição cosmopolita (ELLING, 2013).

Existem aproximadamente 100 espécies conhecidas de *Meloidogyne* atualmente, contudo, apenas quatro são mais estudadas, sendo conhecidas como as ‘maiores’ espécies: *M. incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood 1949, *M. arenaria* (Neal, 1889) e *M. hapla* Chitwood 1949 (KARSSSEN, 2002; PERRY; MOENS; STARR, 2009; WESEMAEL; VIAENE; MOENS, 2011).

Em cana-de-açúcar, o primeiro relato desse nematoide ocorreu em 1885, na ilha de Java (Indonésia), por Treub. No Brasil, os primeiros estudos na área foram desenvolvidos por Luís Gonzaga Engelberg Lordello, visando à realização de assinalamento de espécies e levantamentos populacionais (LORDELLO, 1981). Dentre as espécies de nematoides das galhas, as de maior importância para o cultivo de cana no Nordeste brasileiro são *M. incognita* e *M. javanica*, isso se dá pelos danos causados pelas referidas espécies (DINARDO-MIRANDA, 2008). Segundo Dinardo-Miranda (2005), *M. javanica* e *P. zaeae* reduzem a produtividade em torno de 20 a 30 %, sendo as maiores perdas causadas por *M. incognita*, cuja redução pode atingir 40 a 50 % já no primeiro corte. As espécies de nematoides das galhas, *M. incognita* e *M. javanica*, estão presentes praticamente em todos os cultivos de cana-de-açúcar no Brasil (DIAS-ARIEIRA et al., 2010).

A identificação das espécies de *Meloidogyne* inicialmente era baseada nas características da configuração perineal das fêmeas. Porém, foi constatado que existia muita variabilidade e, além disso, alguns padrões se assemelhavam muito a *M. incognita* e *M. arenaria* (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001; BRITO et al., 2004), resultando na identificação incorreta da espécie. Apenas *M. arenaria* e *M. incognita* apresentam especificidade em nível de raça. Com as limitações da configuração perineal na identificação das espécies, outra técnica, baseada no padrão enzimático, da isoenzimas esterase, que é característica espécie-específica, facilmente identifica as principais espécies de *Meloidogyne* (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001) e, tem sido a técnica mais utilizada no presente.

Espécies de *Meloidogyne* por serem parasitos obrigados, não matam a célula hospedeira (alimentação), e possuem acentuado dimorfismo sexual. A forma infectiva é o juvenil de segundo estágio e, quando chegam à forma adulta, após quatro ecdises (do ovo até a fase adulta), a fêmea possui corpo piriforme, de cor branco-leitosa. As fêmeas depositam os ovos numa matriz gelatinosa, no interior das raízes ou na superfície delas. Pelo fato do macho ser raro ou ausente na maioria das espécies, a fêmea reproduz-se por partenogênese, entretanto, algumas espécies se reproduzem por anfimixia. Os machos são vermiformes, migradores, não se alimentam, possuem vida efêmera e habitam o solo.

Em solos com temperatura acima de 28°C, *Meloidogyne* spp. têm sobrevivência prolongada. As espécies *M. incognita* e *M. javanica* são cosmopolitas e apresentam boa adaptação às várias regiões edafoclimáticas do Brasil (EMBRAPA, 2007). Estão associadas a severidade desses nematoides o hospedeiro suscetível, a espécie e/ou raça do nematoide presente na lavoura, o potencial do inóculo presente na área e as características do solo. Solos mais arenosos ou franco-arenosos tendem a ser mais favoráveis ao nematoide por facilitar a sua movimentação e migração. O monocultivo favorece o aumento da severidade desse patógeno (SILVA, 2012).

*Meloidogyne* spp. ocasionam sintomas característicos em raízes, as chamadas galhas, que são células que sofreram processo de hipertrofia e hiperplasia, devido o parasitismo do fitonematoide. Entretanto, em cana-de-açúcar, os sintomas característicos da meloidoginose, embora não seja apresentado por todas as plantas suscetíveis, é o engrossamento das raízes. Autores afirmam que para a diferenciação de genótipos através das galhas é impreciso, já que nessa cultura não ocorre à formação de galhas visíveis (SILVA, 2012).

A infecção também afeta as relações água × planta e o processo fotossintético (MELAKEBERHAN; BROOKE; WEBSTER, 1986). Outros sintomas associados à infecção,

como destruição de pelos absorventes e redução da taxa de crescimento das raízes, limitam a exploração do solo e absorção de água e nutrientes, provocando o tombamento de plantas e predisposição ao ataque de outros microrganismos (DIAS; RIBEIRO JUNIOR, 2001).

Dentre as principais medidas de controle recomendadas para manejo dos nematoides das galhas, estão o uso de plantas resistentes, a rotação de cultura com plantas não hospedeiras, a adição de matéria orgânica, o emprego de plantas antagônicas e a utilização de nematicidas sistêmicos (FERRAZ et al, 2010), destacando-se o uso de variedades resistentes.

O uso da resistência genética de plantas seria o método de manejo ideal, porém diante da escassez de cultivares resistentes, o uso desse método tem sido limitado (FRANZENER et al., 2005). Em pesquisas realizadas até o presente, apenas a variedade SP70-1143 foi relatada com esta característica para *M. javanica* (NOVARETTI; NUNES JUNIOR; NELLI, 1981). Em contrapartida, a suscetibilidade das variedades de cana-de-açúcar a estes patógenos já foi comprovada por diversos pesquisadores (NOVARETTI; MONTEIRO; FERRAZ, 1998; DINARDO-MIRANDA, 1999; MOURA et al., 2000; CHAVES et al., 2007).

O controle de nematoides em cana-de-açúcar é feito basicamente por meio de nematicidas. No entanto, muitos trabalhos demonstram que apesar da redução da população de nematoides nas primeiras semanas que sucedem à aplicação dos produtos, o número desses organismos no solo tende a voltar a níveis elevados, 90 a 120 dias após o tratamento (NOVARETTI et al., 1984; DINARDO-MIRANDA et al. 1995). Aliado a estes resultados, o uso de produtos químicos no controle de nematoides deve sempre ser correlacionado ao custo-benefício, pois são produtos onerosos e causam grande impacto ao ambiente devido a sua elevada toxicidade (BARROS; MOURA; PEDROSA, 2003; ROSA, MOURA; PEDROSA, 2003). Em relação ao uso de agrotóxicos, estima-se que o custo do controle de nematoides pode equivaler três vezes à soma dos gastos contra insetos, fungos e plantas daninhas (BIRD; KALOSHIAN, 2003).

### **Fisiologia do parasitismo**

A interação planta-nematoide é composta por diversas fases. Em síntese, o processo tem início a partir da atração do nematoide até o sítio de alimentação no órgão da planta e o contato inicial com as camadas externas das células até a sua reprodução. O sucesso do parasitismo é dependente da eficiência no progresso dessas fases (FARIAS et al., 2003). O sintoma típico oriundo da infecção causada por *Meloidogyne* é o surgimento das galhas em

locais de alimentação do nematoide ou pontos adjacentes. Ainda não se sabe de maneira precisa quais mecanismos estão envolvidos, mas é provável que substâncias efetoras produzidas em células da glândula esofagiana desempenhem um papel chave no processo (ELLING, 2013).

Como em todos os nematoides, nos nematoides das galhas, dentro do ovo ocorre embriogênese/morfogênese que leva ao desenvolvimento do juvenil de primeiro estágio (J1). A casca do ovo do nematoide é principalmente composta por proteínas (50%), quitina (30%) e lipídios (BIRD; McCLURE, 1976). No interior do ovo, o juvenil de *Meloidogyne* possui o estado mais protegido do seu ciclo de vida, pois a casca impede a passagem de moléculas pequenas (como toxinas fúngicas) que facilmente penetra a cutícula dos juvenis já eclodidos (ROGALSKI; RIDDLE, 1988).

A primeira das quatro ecdises ocorre dentro do ovo, em seguida o juvenil de segundo estágio (J2) eclode, rompendo o ovo com auxílio do estilete. A eclosão é estimulada por diversos fatores, que podem ser químicos ou físicos, como umidade, aeração do solo, pH e moléculas orgânicas e inorgânicas contidos na água do solo que são atraídos para a raiz (TIHOHOD, 2000). A forma infectiva de nematoides do gênero *Meloidogyne* é o J2.

Logo após a eclosão, o J2 do *Meloidogyne* exibe movimentos aleatórios, se não houver a presença de substâncias atrativas do hospedeiro. Porém, quando essas substâncias estão presentes, o J2 muda de direção. Sendo orientado pelo gradiente de concentração das substâncias em direção à ponta raiz (PERRY; AUMANN, 1998), utilizando um sistema sensorial complexo que percebe exsudatos radiculares do hospedeiro, por quimiotaxismo (BIRD, 1992). As exsudações radiculares incluem a secreção de íons, oxigênio livre e água, enzimas, mucilagem, e uma gama diversificada de metabólitos de carbono, primário e secundário (BERTIN; YANG; WESTON, 2003).

Os juvenis de segundo estágio (J2) penetram à raiz, na região da zona de crescimento celular, próximo à coifa e migram entre as células vegetais até atingirem o cilindro vascular. A penetração é favorecida pela ação mecânica do estilete, mas também por substâncias efetoras para degradar a parede celular (enzimas pectinolíticas/celulolíticas) (HAEGEMAN et al., 2011). Dados genômicos evidenciam que *Meloidogyne* spp. produzem elevado número de enzimas que degradam a parede celular (ABAD et al., 2008; OPPERMAN et al., 2008; DANCHIN et al., 2010).

Após penetração nos tecidos vasculares, o J2 se torna sedentário e, induz a formação das células de alimentação a partir de algumas células do parênquima. As secreções dos

nematóides são cruciais para o estabelecimento do sítio de alimentação dentro da raiz hospedeira (BELLAFIORE; BRIGGS 2010; ROSSO; HUSSEY, 2012; MITCHUM et al. 2013). Através da secreção de uma série de compostos (incluindo efetores), para o interior de células da raiz, espécies do gênero *Meloidogyne* induzem a formação de células hipertrofiadas, multinucleadas e que são metabolicamente ativas, sendo denominadas como células gigantes (KYNDT et al. 2013). A formação do sítio de alimentação permite que o nematoide se alimente de grande quantidade de solução nutritiva das raízes parasitadas. Após o estabelecimento do sítio de alimentação, o J2 aumenta de tamanho e sofre as subseqüentes ecdises se transformando em juvenis de terceiro e quarto estágio (J3/J4), que são fases onde o nematoide não se alimenta, já que os mesmos perderam os estiletes. Após a quarta e última ecdise, o nematoide se torna adulto (macho ou fêmea). A fêmea se torna obesa e sedentária, enquanto o macho se torna vermiforme e migra para fora da raiz.

Todas as alterações ocorridas na morfologia das células de alimentação dos fitonematóides estão associadas com mudanças na expressão genética das células afetadas da raiz (GHEYSEN; FENOLL, 2002). Como resultado dos danos provocados à raiz oriundos do parasitismo do nematoide das galhas, ocorre à interrupção dos processos fisiológicos em toda a planta, causando crescimento atrofiado, plantas cloróticas e com baixa produtividade (HUSSEY; WILLIAMSON, 1998).

### **Resistência e tolerância**

A resistência de plantas a patógenos geralmente é definida como a capacidade da planta reduzir, inibir ou superar a ataque do agente patogênico (WINGARD, 1953). Para fitonematóides, a definição mais comumente utilizada, é a capacidade de uma planta (resistente) inibir a reprodução de uma espécie de nematoide em comparação à reprodução em outra planta (suscetível) (COOK; EVANS, 1987). Em adição a definição de resistência, os fitonematologistas separam a resposta do hospedeiro ao parasitismo (tolerância ou intolerância) da habilidade da planta em suportar a reprodução do nematoide (resistência ou suscetibilidade).

O termo tolerância tem sido usado por autores para descrever a resposta geral da planta em relação ao parasitismo dos nematóides. Sendo que o termo só deve ser utilizado para relatar a quantidade de lesões do hospedeiro e a diminuição do seu rendimento (COOK; EVANS, 1987), e o mesmo não deve ser considerado um tipo de resistência. Em plantas

tolerantes os danos são reduzidos ou praticamente não existem, já em plantas intolerantes, os danos são severos (SILVA, 2001).

A resistência ou suscetibilidade está envolvida com a capacidade do hospedeiro (planta), de inibir ou não, o desenvolvimento e/ou reprodução do fitonematoide. Em plantas resistentes o desenvolvimento e a reprodução do nematoide são reduzidos, enquanto que nas suscetíveis o desenvolvimento é pleno e as taxas de reprodução são elevadas. Segundo Barker (1993) existe três interações básicas que podem acontecer entre nematoides e plantas: a neutra (imune); a compatível (boa hospedeira) e incompatível (má hospedeira).

Em alguns casos o termo suscetibilidade é utilizado de maneira incorreta, seja com o intuito de indicar falta de resistência ou falta de tolerância, ou ambos. E pode ser definido como a soma de atributos que tornam a planta um hospedeiro adequado ao nematoide. Desse modo, o oposto de uma planta completamente suscetível é uma “não hospedeira” ou “imune” ao nematoide, isto é, que não é reconhecida, penetrada ou parasitada por ele (TRUDGILL, 1991).

A resistência genética pode ser classificada como monogênica/oligogênica (expressa por um ou mais genes) ou poligênica (expressa por vários genes). Em outra perspectiva, baseada na associação patógeno-hospedeiro, a resistência pode ser subdividida em resistência vertical (raça-específica) ou resistência horizontal (doença específica). A resistência vertical atua sobre o inóculo inicial ( $X_0$ ), enquanto que a resistência horizontal age sobre a taxa de progresso da doença ( $r$ ).

### **Resistência de plantas a fitonematoides**

No ecossistema natural as plantas são resistentes ou imunes à maioria dos inúmeros micro-organismos existentes, embora estes sejam portadores de atributos bioquímicos suficientes para degradar a matéria orgânica vegetal morta, não sendo patogênicos às plantas vivas (MEDEIROS; FERREIRA; DIANESE, 2003). De uma forma geral os micro-organismos possuem mecanismos deletérios à maioria dos tecidos e dos órgãos vegetais, mas apenas alguns conseguiram desenvolver maneiras de anular ou contornar os mecanismos de defesa das plantas (MEDEIROS; FERREIRA; DIANESE, 2003).

A identificação de fontes de resistência aos nematoides das galhas, preferencialmente entre as cultivares comerciais, bem como a busca pelo desenvolvimento de cultivares resistentes, adaptadas às diversas condições edafoclimáticas do Brasil, tem sido a preocupação

de alguns pesquisadores, especialmente a partir do início da década de 1990 (FIORINI et al., 2005).

A resistência é uma característica governada pela expressão de genes que conferem esse fenótipo. Quando governada por um único gene, a resistência é conhecida como monogênica, fazendo com que a diferença entre plantas resistentes e suscetíveis seja grande e de fácil visualização. Quando esta característica é governada por um conjunto de genes de efeito menor é conhecida como poligênica, neste caso há variação contínua de graus de resistência, variando de extrema suscetibilidade à extrema resistência (MICHEREFF; ANDRADE; MENEZES, 2005).

Devido a esta variação, é possível observar que em uma determinada espécie pode haver variedades resistentes e suscetíveis ou variedades com vários graus de resistência a um determinado patógeno (BERGAMIN FILHO; KIMATI; AMORIN, 1995). Bioquimicamente, esta diferença pode estar ligada à produção e/ou a quantidade de uma determinada proteína ou compostos de defesa (PACHOLATI; LEITE, 1994).

Andrade et al. (2002) trabalhando com feijão de corda, avaliaram a presença da atividade hidrolítica da  $\beta$ -1,3-glucanase em variedades resistente e suscetível. Em seus estudos foi observado que mudanças na atividade desta enzima foram detectadas em ambos os genótipos infectados. Entretanto, os níveis de atividade mostraram-se maiores no cultivar resistente do que no suscetível, comparados às respectivas testemunhas. Estes dados sugerem que a resistência está ligada, diretamente, à eficiente produção desta enzima no genótipo resistente em relação ao nematoide.

### **Resistência a *Meloidogyne* spp.**

Fontes de resistência aos nematoides foram identificadas em espécies selvagens de plantas cultivadas e, a partir dessas, cultivares resistentes a nematoides foram desenvolvidas (WILLIAMSON; ROBERTS, 2009). Entretanto, algumas dessas fontes não têm sido usadas pelos programas de melhoramento genético, devido à incompatibilidade entre espécies selvagens e cultivadas.

Dentre os genes de resistência estudados e que foram clonados, o gene Mi tem sido o mais abordado nas pesquisas. Por exemplo, já se sabe que o gene Mi-1.2 confere resistência a três espécies de nematoides das galhas, *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*, enquanto o gene Mi-9 confere resistência a *M. incognita* e *M. javanica* (DROPIKIN, 1969b; ROBERTS;

THOMASON, 1986; VEREMIS; VAN HEUDSEN; ROBERTS, 1999). O gene *Mi* pertence à classe dos genes NBS-LRR. São conhecidos como o maior grupo de genes de resistência de plantas já clonados. Codificam para proteínas com um sítio de ligação a nucleotídeos (NBS) na região N-terminal, e um domínio rico em repetições de leucina (LRR) na região C-terminal. Genes desta classe conferem resistência a diversos patógenos incluindo vírus, bactérias, fungos e nematoides (GUIMARÃES et al., 2005).

A maioria dos mecanismos de resistência são pós-infeccionais, ou seja, em muitos casos, a resistência a *Meloidogyne* é caracterizada pelo insucesso na formação do sítio de alimentação do nematoide, ou em resultado da reação de hipersensibilidade (HR) que ocorreu nesse ponto. Em tomateiros que possuem o gene de resistência *Mi.1-2*, a resistência é caracterizada por uma rápida HR (RIGGS; WINSTEAD, 1959; DROPIKIN, 1969a). Entretanto, necroses podem ser visualizadas em células do córtex e da epiderme em raízes de pimenta resistentes aos nematoides das galhas (PEGARD et al., 2005). Outros genes que também desencadeiam respostas de (HR) são *Mex-1* que condiciona resistência no cafeeiro (ANTHONY et al., 2005) e *Me-7* responsável pela resistência em pimentões (PEGARD et al., 2005). A reação de hipersensibilidade pode ocorrer de 12-24 após a penetração dos juvenis nas raízes, resultando em morte das células ou falha no desenvolvimento do sítio de alimentação dos juvenis que penetraram.

No entanto, existem mecanismos de resistência a *Meloidogyne* em que uma típica RH não ocorre. É o caso da interação caupi – *Meloidogyne*, na qual os nematoides não atingem a maturidade e não produzem ovos nas raízes resistentes (DAS et al., 2008).

As plantas podem se defender do ataque dos fitonematoides através de barreiras físicas e químicas pré-existentes, da produção de compostos fenólicos, da produção de fitoalexinas e através da produção de proteínas relacionadas à patogênese (PR) (ZAVALETA-MEJÍA; KALOSHIAN, 2012).

Durante o processo de infecção por nematoides, alguns genes são suprimidos ou ‘super expressos’, dependendo se o hospedeiro é resistente ou suscetível. Por exemplo, em plantas parasitadas por fitonematoides, genes da extensina e biossíntese de lignina e peroxidase são ‘super expressos’ decorrentes do ataque do patógeno.

O desafio atual em fitonematologia é elucidar a base molecular da avirulência, que poderá esclarecer uma complexa série de eventos celulares que conduzem à defesa da planta, com importante consequência no manejo de genes de resistências *Mi* ao nematoide das

galhas, que poderá trazer novos conhecimentos sobre variabilidade genética desses organismos partenogênicos (CASTAGNONE-SERENO, 2002).

Diante do importante papel que os nematoides das galhas possuem, devido aos impactos causados ao cultivo da cana-de-açúcar, o presente estudo objetivou avaliar o comportamento de genótipos RB de cana-de-açúcar em relação ao parasitismo de espécies de *Meloidogyne* e, estudar os mecanismos envolvidos na associação nematoide-planta, na tentativa evidenciar alguma possível fonte de resistência.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, P.; GOUZY, J.; AURY, J. M.; CASTAGNONE-SERENO, P.; DANCHIN, E. G.; DELEURY, E.; PERFUS-BARBEOCH, L.; ANTHOUARD, V.; ARTIGUENAVE, F., BLOK, V. C.; CAILLAUD, M. C.; COUTINHO, P. M.; DASILVA, C.; DE LUCA, F., DEAU, F.; ESQUIBET, M.; FLUTRE, T.; GOLDSTONE, J. V.; HAMAMOUCHE, N., HEWEZI, T.; JAILLON, O.; JUBIN, C.; LEONETTI, P.; MAGLIANO, M., MAIER, T. R.; MARKOV, G. V.; MCVEIGH, P.; PESOLE, G.; POULAIN, J.; ROBINSON-RECHAVI, M.; SALLET, E.; SEGURENS, B.; STEINBACH, D.; TYTGAT, T.; UGARTE, E.; VAN GHELDER, C.; VERONICO, P.; BAUM, T. J.; BLAXTER, M.; BLEVE-ZACHEO, T.; DAVIS, E. L.; EWBANK, J. J.; FAVERY, B.; GRENIER, E.; HENRISSAT, B.; JONES, J. T.; LAUDET, V.; MAULE, A. G.; QUESNEVILLE, H.; ROSSO, M. N.; SCHIEX, T.; SMANT, G.; WEISSENBACH, J.; WINCKER, P. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. **Nat Biotechnol**, New York, v. 26, n. 8, p. 909-15, 2008.

ALENCAR, K. **Análise do balanço entre demanda por etanol e oferta de cana-de-açúcar no Brasil**. 2012. 49 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba.

ALFONSI, R. R. et al. Condições climáticas para a cana-de-açúcar. In: PARANHOS, S. B. (Ed.). **Cana-de-açúcar: Cultivo e utilização**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 1, p. 42-55.

ANDRADE, M. C. (Ed.). **Pernambuco cinco séculos de colonização**. João Pessoa: Grafset, 2004. 168 p.

ANDRADE et al

ANTHONY, F.; TOPART, P.; MARTINEZ, A.; SILVA, M.; NICOLE, M.; SILVA, A. R. Hypersensitive-like reaction conferred by the Mex-1 resistance gene against *Meloidogyne exigua* in coffee. **Plant Pathology**, Oxford, v. 54, n. 4, p. 476-482, 2005.

BARROS, A. C. B.; MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R. Influência da aplicação conjunta de nematicida com calcário, cupinicida ou torta de filtro na eficiência do nematicida em cana-de-açúcar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25. 2003, Petrolina, **Resumos...** Petrolina: Sociedade Brasileira de Nematologia, 2003. v. 2, n. 27, p. 277.

BARKER, K. R. Resistance/Tolerance and Related Concepts/Terminology in plant nematology. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 77, n. 2, p. 111-113, 1993.

BASTOS, E. (Ed.). **Cana-de-açúcar, o verde mar de energia**. São Paulo: Ícone, 1987. 130 p.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia Princípios e conceitos**. v. 1, São Paulo: ed. Ceres, 1995. 704 p.

BELLAFIGLIORE, S.; BRIGGS, S. P. Nematode effectors and plant responses to infection. **Current opinion in plant biology**, Amsterdam, v. 13, n. 4, p. 442-448, 2010.

BERTIN, C.; YANG X. H.; WESTON, L. A. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. **Plant and Soil**, Amsterdam, v. 256, n.1, p. 67-83, 2003.

BIRD, A. F.; McCLURE, M. A. The tylenchid (Nematoda) egg shell: structure, composition and permeability . **Parasitology**, Cambridge, v. 72, n. 1, p. 19-28, 1976.

BIRD, D. M. Mechanisms of the *Meloidogyne*-host interaction. In: GOMMERS, F.; MAAS, P. W. T. (Eds.). **Nematology: from molecule to ecosystem**. Dundee: European Society of Nematologists, 1992. p. 51-59.

BIRD, D. M.; KALOSHIAN, I. Are roots special? Nematodes have their say. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 62, n. 2, p. 115-123, 2003.

BRIEGER, F. A. **Recomendação para o plantio de cana-de-açúcar**. São Paulo: Cooperativa dos Usineiros do Oeste do Estado de São Paulo, 1962. (Boletim, n. 10).

BRITO, J.A.; POWERS, T.O.; MULLIN, P.G.; INSERRA, R.N.; DICKSON, D.W. Morphological and molecular characterization of *Meloidogyne mayaguensis* isolates from Florida. **Journal of Nematology**, Saint Paul, v. 36, n. 3, p. 232-240, 2004.

CADET, R.; SPAULL, V. W.; Nematodes parasites of sugarcane. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds.). **Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**. 2. ed. Cambridge: CABI Publishing, 2005. p. 645-674.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 35-44, 2001.

CASCUDO, L. C. **Sociologia do açúcar**: pesquisa e dedução. Rio de Janeiro: Instituto do Açúcar e do Alcool. Serviço de Documentação, 1971. 478p. (Coleção canavieira, 5).

CASTAGNONE-SERENO, P. Genetic variability of nematodes: a threat to the durability of plant resistance genes? **Euphytica**, Wageningen, v. 124, n. 2, p. 193-9, 2002.

CHAVES, A.; MELO, L. J. O. T.; SIMOES NETO, D. E.; COSTA, I. G.; PEDROSA, E. M. R. Declínio severo do desenvolvimento da cana-de-açúcar em tabuleiros costeiros do estado de Pernambuco. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 10-12, 2007.

CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A.; ABREU, H. M.; ARRUDA, P.; BESPALHOK FILHO, J. C.; BURNQUIST, W. L.; CRESTE, S.; DI CIERO, L.; FERRO, J. A.; FIGUEIRA, A. V. O.; FILGUEIRAS, T. S.; GROSSI-DE-SA, M. D.; GUZZO, E. C.; HOFFMANN, H. P.; LANDELL, M. G. A.; MACEDO, N.; MATSUOKA, S.; REINACH, F. C.; ROMANO, E.; DA SILVA, W. J.; SILVA FILHO, M. C.; ULIAN, E. C. Sugarcane (*Saccharum X officinarum*): A reference study for the regulation of genetically modified cultivars in Brazil. **Tropical plant biology**, New York, v. 4, n. 1, p. 62-89, 2011.

COOK, R.; EVANS, K. Resistance and tolerance. In: BROWN, R. H.; KERRY, B. R. (Eds.). **Principles and practice of nematode control in crops**. New York: Academic Press, 1987. p. 179-231.

**CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento**. Brasília: Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, primeiro levantamento, junho/2015. Companhia Nacional de Abastecimento, 2015. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_06\\_10\\_09\\_24\\_57\\_boletim\\_cafe\\_junho\\_2015.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_06_10_09_24_57_boletim_cafe_junho_2015.pdf)> Acesso em: 19 jun. 2015.

DANCHIN, E. G.; ROSSO, M. N.; VIEIRA, P.; DE ALMEIDA-ENGLER, J.; COUTINHO, P. M.; HENRISSAT, B.; ABAD, P. Multiple lateral gene transfers and duplications have promoted plant parasitism ability in nematodes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 107, n. 41, p. 17651-17656, 2010.

DAS, S.; DEMASON, D. A.; EHLERS, J. D.; CLOSE, T. J.; ROBERTS, P. A. Histological characterization of root-knot nematode resistance in cowpea and its relation to reactive oxygen species modulation. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 59, n. 6, p. 1305-13, 2008.

DIAS, M. S. C.; RIBEIRO JUNIOR, P. M. Nematóides na bananicultura. In: SIMPÓSIO NORTE MINEIRO SOBRE A CULTURA DA BANANA, 1., 2001, Montes Claros. **Anais...** Montes Claros: Unimontes, 2001. p. 168-179.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; SANTOS, D. A.; SOUTO, E. R.; BIELA, F.; CHIAMOLERA, F. M.; CUNHA, T. P. L.; SANTANA, S. M.; PUERARI, H. H. Reação de variedades de cana-de-açúcar aos nematoides das galhas. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 4, p. 198-203, 2010.

DILLON, S. L.; SHAPTER, F. M.; ROBERT, H. J.; CORDEIRO, G.; IZQUIERDO, L.; LEE, S. L. Domestication to crop improvement: genetic resources for Sorghum and Saccharum (Andropogoneae). **Annals of botany**, London, v. 100, n. 5, p. 975-989, 2007.

DINARDO MIRANDA, L. L. Reação de variedades de cana-de-açúcar ao parasitismo de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 76-83, 1999.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Nematoides e pragas de solo em cana-de-açúcar. Piracicaba: Encarte do Informações Agronômicas - PATOFÓS, 2005. Disponível em: [http://www.ipni.net/publication/ia-brasil.nsf/0/B1FA44831820884083257AA1006BC838/\\$FILE/Enc25-32-110.pdf](http://www.ipni.net/publication/ia-brasil.nsf/0/B1FA44831820884083257AA1006BC838/$FILE/Enc25-32-110.pdf) Acesso em: 26 jun. 2015.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Nematoides. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. (Eds.). **Cana-de-açúcar**. 1. ed. Campinas: Instituto Agronômico, 2008. v. 1, p. 405-422.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; NOVARETTI, W. R. T.; MORELLI, J. L.; NELLI, E. J. Comportamento de variedades de cana-de-açúcar em relação a *Meloidogyne javanica* em condições de campo. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 1, p. 60-66, 1995.

DROPIKIN, V. H. Cellular responses of plants to nematode infections. **Annual Review of Phytopathology**, Saint Paul, v. 7, n. 1, p. 101-122, 1969a.

DROPIKIN, V. H. The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 59, n. 1, p. 1632-1637, 1969b.

EMBRAPA – Cultivo de tomate para industrialização. Brasília: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, 2007. Disponível em:  
<[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial\\_2ed/doenças\\_nema.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/doenças_nema.htm)> Acesso em: 05 jul. 2015.

ELLING, A. A. Major emerging problems with minor meloidogyne species. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 103, n. 11, p. 1092-102, 2013.

ENDRES, L.; SILVA, J. V.; FERREIRA, V. M.; BARBOSA, G. V. S. Photosynthesis and water relations in brazilian sugarcane. **The Open Agriculture Journal**, Hilversum v. 4, n. 1, p. 31-37, 2010.

FARIAS, C. M. D. R.; SALGADO, S. M. L.; CAMPOS, H. D.; RESENDE, M. L. V.; CAMPOS, V. P.; COIMBRA, J. L. Mecanismo de ataque e defesa na interação nematoide-planta. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 11, n. 3, p. 373-410, 2003.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. (Eds). **Manejo sustentável de fitonematoides**. 1 ed. Viçosa: Editora UFV, 2010. v. 1, 304 p.

FIORINI, C. V. A.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; FIORINI, I. V. A.; DUARTE, R. P. F.; LICURSI, V. Avaliação de populações F2 de alface quanto à resistência aos nematoides das galhas e tolerância ao florescimento precoce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 299-302, 2005.

FRANZENER G.; UNFRIED, J. R.; STANGARLIN, J. R.; FURLANETTO, C. Nematoides formadores de galhas e de cisto patogênicos a cultura da soja em municípios do oeste do Paraná. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 261-265, 2005.

FREYRE, G. (Ed.). **Açúcar em torno da etnografia da história e da sociologia do doce no Nordeste canavieiro do Brasil**. 3ª ed. Recife: Massangana, 1987. 213 p.

GHEYSEN, G.; FENOLL, C. Gene expression in nematode feeding sites. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 40, p. 191-219, 2002.

GOELDI, E. M. Relatório sobre a moléstia do cafeeiro na província do Rio de Janeiro. **Archivos do Museu Nacional**, Rio de Janeiro, v. 8, p. 7-123, 1887.

GOMES, F. P.; LIMA, U. A cana-de-açúcar no mundo. In: MALAVOLTA et al., (Eds.). **Cultura e adubação da cana-de-açúcar**. Instituto Brasileiro de Potassa, São Paulo, 1964. p. 11-26.

GOMES, G. (Ed.). **Engenho e arquitetura**. Recife: Massangana, 2006. 411p.

GUIMARÃES, P. M.; JOSÉ, A. C. F. V.; PROITE, K.; BERTIOLI, D. J.; LEAL-BERTIOLI, S. C. M. Desenvolvimento de marcadores moleculares para análogos a genes de resistência em *Arachis* spp. silvestre. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 6, p. 663-667, 2005.

HAEGEMAN, A.; MANTELIN, S.; JONES, J. T.; GHEYSEN, G. Functional roles of effectors of plant-parasitic nematodes. **Gene**, Amsterdam, v. 492, n. 1, p. 19-31, 2011.

HUSSEY, R. S. WILLIAMSON, V. M. Physiological and molecular aspects of nematode parasitism. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAM, G. L. (Eds.). **Plant nematode interactions**. Madison: Agronomy Monograph, 1998. v. 36, p. 87-108.

HUSSEY, R. S.; GRUNDLER, F. M. W. Nematode parasitism of plant. In: PERY, R. N.; WRIGTH, D. J. (Eds.). **The physiology and biochemistry of free living and plant-parasitic nematodes**. 1. ed. London: CABI Publishing, 1998. p. 213-243.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - Estatística da Produção Agrícola, 2012. Disponível em: < [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr\\_201202.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr_201202.pdf)> Acesso: 12 jun. 2015.

KARSSSEN, G. (Ed.). **The plant-parasitic nematode genus *Meloidogyne* Göldi, 1892 (Tylenchida) in Europe**. Leiden: Brill, 2002. 160 p.

KYNDT, T.; VIEIRA, P.; GHEYSEN, G.; DE ALMEIDA-ENGLER, J. Nematode feeding sites: unique organs in plant roots. **Planta**, Berlin, v. 238, n. 5, 2013.

LORDELLO, L.G.E. **Nematóides das plantas cultivadas**. 6° ed. São Paulo, Nobel, 314p. 1981.

LUCCHESI, A. A. Cana-de-açúcar. In: CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. (Eds.). **Ecofisiologia de culturas extrativistas: cana-de-açúcar, seringueira, coqueiro, dendezeiro e oliveira**. 1. ed. Piracicaba: Cosmópolis Stoller do Brasil, 2001. v. 1, p. 13-45.

MACCHERONI, W.; MATSUOKA, .... Manejo das principais doenças da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V.; PINTO, S. N.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. (Eds.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. 1.ed. Piracaba: CP 2, 2006. p. 238-256.

MAULE, R. F.; MAZZA, A.; MARTHA JÚNIOR, G. B. Produtividade agrícola de cultivares de cana-de-açúcar em diferentes solos e épocas de colheita. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 2, p. 295-301, 2001.

MEDEIROS, R. B.; FERREIRA, M. A. S. V.; DIANESE, J. C. **Mecanismos de agressão e defesa nas interações planta-patógeno**. Brasília: UNB, 2003. 290p.

MELAKEBERHAM, H.; BROOKE, R. C.; WEBSTER, J. M. Relationship between physiological response of French beans of different age to *Meloidogyne incognita* and subsequent yield losses. **Plant Pathology**, London, v. 35, n. 2, p. 203-213, 1986.

MITCHUM, M. G.; HUSSEY, R. S.; BAUM, T. J.; WANG, X.; ELLING, A. A.; WUBBEN, M.; DAVIS, E. L. Nematode effector proteins: an emerging paradigm of parasitism. **New Phytologist**, London, v. 199, n. 4, p. 879-894, 2013.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, 2005. 398p.

MOURA, R. M. Controle integrado dos nematoides da cana-de-açúcar no Nordeste do Brasil. 22º Congresso Brasileiro de Nematologia, **Anais...** Uberlândia: Nematologia Brasileira, 2000. p. 88-94.

MOURA, R. M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 4, p. 209-244, 1996.

MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R.; MARANHÃO, S. R. V. L.; MACEDO, M. E. A.; MOURA, A. M.; SILVA, E. G.; FERREIRA LIMA, R. Ocorrência dos nematóides *Pratylenchus zae* e *Meloidogyne* spp. Em cana-de-açúcar no nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 25, n.1, p. 101-103. 2000.

MOZAMBANI, A. E.; PINTO, A. S.; VANZOLINI, S.; MATTIUZ, C. F. M. História e morfologia da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. (Eds.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. 1. ed. Piracicaba: CP 2, 2006. p. 11-18.

NOVARETTI, W. R. T.; NUNES JUNIOR, D.; NELLI, E. J. Comportamento de clones e variedades comerciais em relação aos nematoides *Meloidogyne javanica*. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, 5., 1981, Londrina. **Resumos...** Londrina: Sociedade Brasileira de Nematologia, 1981. p. 27.

NOVARETTI, W. R. T.; MONTEIRO, A. R.; FERRAZ, L. C. C. B. Controle químico de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zae* em cana-de-açúcar com Carbofuran e Terbufos. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 60-74, 1998.

NOVARETTI, W. R. T.; NELLI, E. J.; DINARDO, L. L.; CARDERAN. Influência da época de plantio da cana-de-açúcar no controle químico de nematoides. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 8, n. 1, p. 218-231, 1984.

OPPERMAN, C. H.; BIRD, D. M.; WILLIAMSON, V. M.; ROKHSAR, D. S.; BURKE, M.; COHN, J.; CROMER, J.; DIENER, S.; GAJAN, J.; GRAHAM, S.; HOUFEK, T. D.; LIU, Q.; MITROS, T.; SCHAFF, J.; SCHAFFER, R.; SCHOLL, E.; SOSINSKI, B. R.; THOMAS, V. P.; WINDHAM, E. Sequence and genetic map of *Meloidogyne hapla*: A compact nematode genome for plant parasitism. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 105, n. 39, p. 14802-14807, 2008.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 2, p. 1-52, 1994.

PERRY, R. N.; AUMANN J. Behavior and sensory responses . In: PERRY, R. N.; WRIGHT, D. J. (Eds.). **The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes**. Wallingford: CABI Publishing, 1998, p. 75-102.

PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds.). **Root-knot nematodes**. Wallingford: CAB International, 2009. 488.p

PEGARD, A.; BRIZZARD, G.; FAZARI, A.; SOUCAZE, O.; ABAD, P.; DJIAN-CAPORALINO, C. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 95, p. 159-165, 2005.

PROCANA. **Setor Sucroalcooleiro**. São Paulo, 2012. Disponível em: <[http://ri.biosev.com/biosev/web/conteudo\\_pt.asp?idioma=0&conta=28&tipo=30884](http://ri.biosev.com/biosev/web/conteudo_pt.asp?idioma=0&conta=28&tipo=30884)> Acesso em: 22 ago. 2015.

RIGGS, R. D.; WINSTEAD, N. N. Studies on resistance in tomato to root-knot nematodes and on occurrence of pathogenic biotypes. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 49, n. 2, p. 716-724, 1959.

ROBERTS, P. A.; THOMASON, I. J. Variability in reproduction of isolates of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* on resistant tomato genotypes. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 70, n. 6, p. 547-551, 1986.

ROGALSKI, T. M.; RIDDLE D. L. A *Caenorhabditis elegans* RNA polymerase II gene, *ama-1*, and nearby essential genes. **Genetics**, New York, n. 118, n. 1, p. 61-74, 1988.

ROSA, R. C. T.; MOURA, R. M. PEDROSA, E. M. R. Efeito do uso de *Crotalaria juncea* e carbofuran observados na colheita de cana planta. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 2, n. 27, p. 167-171, 2003.

ROSSO, M. N.; HUSSEY, R. Nematode Effectors Protein: Targets And Functions In Plant Parasitism. In: MARTIN, F.; KAMOUN, S. (Eds.). **Effectors in plant-microbe interactions**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2012. p. 327-354.

SASSER, J. N.; FRECKMAN, D. W. A world perspective on nematology: The role of society. In: VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. (Eds.). **Vistas on nematology**. Hyattsville: Society of Nematologists, 1987. p. 7-14.

SEVERINO, J. J.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; TESSMANN, D. J. Nematodes associated with sugarcane in sandy soils in Paraná, Brazil. **Nematropica**, Bradenton, v. 40, n. 1, p. 111-119, 2010.

SILVA, A. P. **Comportamento de variedades de cana-de-açúcar ao parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *M. enterolobii***. 2012, 47f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

SILVA, I. S. R. **Utilização de um algoritmo de caminho mínimo no processo de recolhimento do palhço da cana-de-açúcar**. 2009, 71 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 2009.

SILVA, J. F. V. Resistência genética da soja a nematoides do gênero *Meloidogyne*. In: SILVA, J. F. V.; MAZAFFERA, P.; CARNEIRO, R. G.; ASMUS, G. L.; FERRAZ, L. C. C. B. **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina: Embrapa Soja, Sociedade de Nematologia, 2001. 127p.

SOUZA, Z. M.; PAIXÃO, A. C. S.; PRADO, R. M.; LUIZ GILBERTO CESARIN, L. G.; SOUZA, S. R. Manejo de palhada de cana colhida sem queima, produtividade do canavial e qualidade do caldo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 5, p. 1062-1068, 2005.

TERAMOTO, E. R. **Avaliação e aplicação de modelos de estimativa de produção de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) baseado em parâmetros do solo e clima**. 2003. 96 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 473p.

TRUDGILL, D. L. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. **Annual Review of Phytopatology**, Palo Alto, v. 29, n. 1, p. 167-192, 1991.

VAN DILLEWIJN, C. (Ed.). **Botany of sugar cane**. Waltham: Chronica Botanica, 1952. 371 p.

VEREMIS, J. C.; VAN HEUDSEN. A. W.; ROBERTS, P. A. Mapping a novel heat-stable resistance to *Meloidogyne* in *Lycopersicon peruvianum*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 98, n. 2, p. 274-280, 1999.

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

WILLIAMSON, V. M.; ROBERTS, P. A. Mechanisms and genetics of resistance. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds.). **Root-knot nematodes**. Wallingford: CAB International, 2009. p. 301-325.

WINGARD, S.A. The nature of resistance to disease. **The Yearbook of Agriculture**. Washington, DC: US Department of Agriculture, 1953. p. 165-173.

ZAVALETA-MEJÍA, E.; KALOSHIAN, I. Plant-nematode interactions. In: MANZANILLA-LÓPEZ, R. H.; MARBÁN-MENDOZA, N. (Eds.). **Practical Plant Nematology**. Montecillo: Colegio de Postgraduados. 2012, p. 699-719.

## **Capítulo II**

---

---

# **Comportamento de genótipos RB de cana-de-açúcar em relação ao parasitismo dos nematoídes das galhas**

1 **COMPORTAMENTO DE GENÓTIPOS RB DE CANA-DE-AÇÚCAR EM RELAÇÃO**  
2 **AO PARASITISMO DOS NEMATOIDES DAS GALHAS<sup>1</sup>**

3  
4  
5  
6 M. S. Silva<sup>2</sup>, M. A. Bandeira<sup>2</sup>, E. M. R. Pedrosa<sup>3\*</sup>, S. R. L. V. Maranhão<sup>2</sup>

7  
8  
9  
10 <sup>1</sup>Parte da tese do primeiro autor. <sup>2</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco Departamento  
11 de Agronomia, Brasil. <sup>3</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco Departamento de  
12 Engenharia Agrícola, Brasil. \* Autor para correspondência: Universidade Federal Rural de  
13 Pernambuco Departamento de Engenharia Agrícola, Dois Irmãos, Recife, PE, Brasil, CEP:  
14 52171-900, email: [elvira.pedrosa@deagri.ufrpe.br](mailto:elvira.pedrosa@deagri.ufrpe.br)

15  
16  
17  
18 **RESUMO** - As espécies de nematoides das galhas, *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*,  
19 causam prejuízos em cultivos de cana-de-açúcar em todo o país, e com a redução no uso de  
20 nematicidas, o desenvolvimento de variedades de cana resistentes destaca-se como medida  
21 ideal de manejo desses nematoides. O presente estudo teve como objetivo avaliar o  
22 comportamento de genótipos RB de cana-de-açúcar em relação ao parasitismo das espécies de  
23 nematoides das galhas *M. incognita* e *M. javanica*, em condição de casa de vegetação. As  
24 avaliações foram realizadas 120 dias após a inoculação de 9000 ovos por planta e  
25 fundamentaram-se no desenvolvimento da hospedeira e reprodução do nematoide. Houve  
26 diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre os genótipos RB para todas as variáveis de  
27 desenvolvimento da planta, e para ambas as espécies de nematoides. Todos os genótipos  
28 analisados foram suscetíveis ( $FR \geq 1,0$ ) à *M. incognita* e *M. javanica*. Porém, alguns genótipos  
29 apresentaram fator de reprodução (FR) inferior ao do tratamento controle. O genótipo  
30 RB071001 se destacou com relação as suas respostas biométricas frente ao parasitismo das  
31 espécies duas espécies de nematoides, podendo ser considerado como tolerante ao ataque dos  
32 mesmos. Diante da ausência de variedades de cana-de-açúcar resistentes aos nematoides das

33 galhas, plantas que se mostram tolerantes, com relativamente baixo FR, podem ser uma  
34 alternativa viável em etapas preliminares até o desenvolvimento de variedades resistentes.

35 **Palavras chave:** Resistência, *Saccharum*, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*.

36

37 **ABSTRACT** - The root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* cause  
38 severe losses in sugarcane fields in Brazil and, with decrease in use of nematicides,  
39 developing resistant varieties pointed as the ideal measure for the nematode management. The  
40 present study had as objective evaluating clones and varieties responses to *M. incognita* and  
41 *M. javanica* parasitism under greenhouse. Evaluations based on plant development and  
42 nematode reproduction and were carried out at 120 days after sugarcane inoculation with  
43 9000 eggs per plant. There was significant difference ( $P \leq 0.05$ ) within genotypes for all plant  
44 development variables and both nematode species. All genotypes were susceptible ( $FR \geq 1.0$ )  
45 to *M. incognita* and *M. javanica*; however, some of them showed reproductive factor (FR)  
46 lower than the control. The genotype RB071001 overtopped in biometric responses to both  
47 nematode species, being considered tolerant. On the lack of resistance, tolerant plants with  
48 low FR could be a preliminary promising alternative to develop resistant varieties.

49

50

## INTRODUÇÃO

51

52 A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é umas das principais culturas da região Nordeste,  
53 sendo o Brasil o maior produtor mundial (FAO, 2013). Entretanto, a produtividade média nos  
54 Estados nordestinos tem ficado abaixo da média nacional, quando comparada a Estados da  
55 região Sudeste. Isso se dá, em parte, em decorrência de vários fatores abióticos e bióticos.  
56 Dentre os agentes bióticos prejudiciais à cultura, destacam-se os fitonematoides, amplamente  
57 disseminados nas áreas de cultivo.

58

59 Os fitonematoides parasitas da cana-de-açúcar reduzem drasticamente o crescimento e  
60 a sustentabilidade da produção (BERRY *et al.*, 2008). Esses patógenos possuem estratégias  
61 bem adaptadas para penetrar e colonizar as plantas hospedeiras, superando as barreiras de  
62 defesa e modulando os mecanismos da planta em benefício próprio (HAEGEMANET *et al.*,  
63 2012; ROSSO *et al.*, 2012; MITCHUM *et al.*, 2013). Dentre os principais nematoides que  
64 parasitam e causam danos severos aos cultivos de cana-de-açúcar, destacam-se as espécies  
endoparasitas sedentárias *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *M. javanica*

65 (Treb) Chitwood e o endoparasito migrador *Pratylenchus zae* Graham (MOURA *et al.*,  
66 2000).

67 As espécies *M. incognita* e *M. javanica* são parasitas obrigados de plantas que se  
68 instalam nas raízes e completam o ciclo de vida, alimentando-se das células hospedeiras  
69 (WILLIAMSON; GLEASON, 2003), causando danos severos ao sistema radicular que se  
70 torna pouco desenvolvido e pouco eficiente, reduzindo significativamente a produtividade  
71 agrícola, quando em altas infestações (LORDELLO, 1981; MOURA; REGIS; MOURA,  
72 1990). Atualmente a meloidoginose, constitui um dos maiores desafios da agroindústria  
73 canavieira, devido à ampla distribuição em território brasileiro, severidade e danos causados.

74 Em Pernambuco, *M. incognita* e *M. javanica* são as espécies prevalentes nos cultivos  
75 de cana-de-açúcar no Estado de Pernambuco (BARBOSA, 2013). Os sintomas observados no  
76 sistema radicular da cana-de-açúcar são galhas e engrossamento das pontas das raízes,  
77 associados à redução da quantidade de raízes secundárias. Os sintomas secundários ou  
78 reflexos são caracterizados pela presença de plantas subdesenvolvidas, amareladas, murchas  
79 nas horas mais quentes do dia, manchas em reboleira e redução na produtividade. Entretanto,  
80 dependendo da variedade e das condições ambientais pode ocorrer morte das plantas em todo  
81 o talhão (CHAVES *et al.*, 2007).

82 O controle de nematoides em cana-de-açúcar é feito basicamente por meio de  
83 nematicidas. No entanto, muitos trabalhos demonstram que apesar da redução da população  
84 de nematoides nas primeiras semanas que sucedem à aplicação dos produtos, o número desses  
85 organismos no solo tende a voltar a níveis elevados, 90 a 120 dias após o tratamento  
86 (NOVARETTI *et al.*, 1984; DINARDO-MIRANDA *et al.*, 1995). Aliado a estes resultados,  
87 tais produtos são onerosos, além de serem altamente tóxicos, oferecendo riscos aos  
88 aplicadores e ao ambiente. Segundo Abawi e Widmer (2000), o uso de nematicidas tem sido  
89 cada vez mais proibido em diferentes países devido aos impactos ambientais, além de serem  
90 tóxicos ao homem e aumentar o custo de produção. Dessa forma, o uso de variedades  
91 resistentes tem se mostrado uma alternativa cada vez mais promissora para manejo de  
92 fitonematoides (KHALLOUK *et al.*, 2011).

93 Embora o desenvolvimento de variedades resistentes a nematoide das galhas tenha  
94 tido sucesso em algodão, amendoim, pimenta, tomate e fumo (STARR; MERCER, 2009),  
95 atualmente não estão disponíveis variedades de cana-de-açúcar resistentes a *M. incognita* e *M.*  
96 *javanica*. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o comportamento de

97 genótipos RB de cana-de-açúcar em relação ao parasitismo de *M. incognita* e *M. javanica* em  
98 condição de casa de vegetação.

99

100

## MATERIAL E MÉTODOS

101

### 102 **Obtenção dos Genótipos**

103

104 Os genótipos da sigla RB (República do Brasil) avaliados são pertencentes ao  
105 Programa de Melhoramento Genético de Cana-de-açúcar da Estação Experimental de Cana-  
106 de-açúcar de Carpina (EECAC). Foram testados genótipos das séries 2004, 2006 e 2007  
107 (Tabela 1 e 2). A variedade RB867515 foi usada como controle suscetível.

108

### 109 **Obtenção das populações**

110

111 As populações de nematoides foram obtidas em áreas cultivadas com cana-de-açúcar  
112 apresentando sintomas de meloidoginose. As amostras provenientes do campo constituídas de  
113 solo e raízes foram acondicionadas em sacos plásticos e encaminhadas à casa de vegetação do  
114 Departamento de Fitossanidade, Laboratório de Nematologia da UFRPE. Posteriormente,  
115 essas amostras foram depositadas em vasos com capacidade para 5L e, em seguida, uma muda  
116 de tomateiro cv. Santa Cruz, com aproximadamente 20 dias de idade, foi transplantada para  
117 cada um dos vasos com o objetivo de multiplicar as populações de *Meloidogyne* spp. para  
118 posterior caracterização bioquímica.

119 A identificação das espécies foi realizada através do fenótipo esterase (Est)  
120 (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001). Antes da inoculação, as populações de *M. incognita* e *M.*  
121 *javanica* foram multiplicadas em tomateiro (*Solanum lycopersicum* cv. Santa Cruz) por 45  
122 dias em condições de casa de vegetação. Os ovos foram extraídos de raízes infectadas usando  
123 NaOCl a 0,5% de acordo a metodologia proposta por Hussey e Barker (1973).

124

### 125 **Condução dos experimentos**

126

127 Após a obtenção dos genótipos, foi realizada a seleção de rebolos de cana-de-açúcar, a  
128 partir da observação da viabilidade de gemas, possibilitando uma melhor brotação e  
129 consequentemente um estande mais uniforme. Os rebolos foram plantados em copos com

130 capacidade de 500 ml, e após 60 dias, transplantados para sacos de 3L, contendo solo  
131 esterilizado por meio de autoclavagem (em temperatura de 120°C a pressão de 1 atm durante  
132 1 h, sendo o processo repetido após 24hs). As mudas foram irrigadas diariamente, e  
133 permaneceram em casa de vegetação durante todo estudo. A temperatura média da casa de  
134 vegetação foi de 31 °C±7 e UR 65%.

135 Foram testados 23 genótipos da sigla RB e duas variedades RB comerciais distintas  
136 com relação ao parasitismo de *M. incognita* e *M. javanica*. A infestação do solo foi feita 15  
137 dias após o transplante, perfazendo três orifícios equidistantes, ao redor do colmo da cana-de-  
138 açúcar, onde foram depositadas suspensões com 9.000 ovos do nematoide/planta. Após a  
139 inoculação, foi cessada a irrigação por dois dias consecutivos, com objetivo de evitar a  
140 lixiviação do inóculo, favorecendo assim a adaptação do patógeno ao meio. Aos 120 dias após  
141 a infestação do solo (DAI), a parte aérea das plantas foi separada do sistema radicular e as  
142 raízes lavadas em água corrente para remoção do solo.

143 A avaliação do desenvolvimento das plantas fundamentou-se no peso fresco da parte  
144 aérea e do sistema radicular, diâmetro do colmo, número de colmos, número de perfilhos e  
145 altura da planta. Para identificar a reação de resistência do hospedeiro ao patógeno, foi  
146 determinado o número de ovos por sistema radicular, número de ovos por grama de raiz e  
147 calculado o fator de reprodução (FR=população final/população inicial).

148 Os ovos foram extraídos de raízes infectadas usando NaOCl a 0,5% de acordo a  
149 metodologia proposta por Hussey e Barker (1973). O número de ovos por sistema radicular  
150 foi obtido através da contagem sob microscópio óptico com o auxílio da lâmina de Peter's.  
151 Genótipos com FR=0 foram considerados imunes, FR<1 resistentes (R), e FR≥1 suscetíveis  
152 (S), conforme Sasser et al. (1984).

153 Para todas as variáveis estudadas, os dados obtidos foram submetidos à análise de  
154 variância (ANOVA) e as médias separadas através do teste de Scott-Knot a 5% de  
155 probabilidade. Os dados os relativos ao desenvolvimento das plantas foram transformados  
156 para  $\sqrt{(x+0,5)}$  e os relativos à reprodução do nematoide em  $\log_{10}(x + 1)$ .

157

158

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

159

160 Houve diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre todas as variáveis analisadas com relação  
161 ao desenvolvimento das plantas e a reprodução do nematoide nos genótipos de cana-de-açúcar  
162 avaliados, para ambas as espécies de nematoides. A viabilidade do inóculo de *M. incognita* e

163 *M. javanica* foi confirmada através do FR, no tratamento controle (RB867515), que ficou  
164 entre 4,74 e 12,15.

165 Com relação ao diâmetro do colmo, para *M. incognita* os genótipos 1, 12 e 20 (Tabela  
166 1) foram os que obtiveram os maiores valores, não diferindo estatisticamente entre si e nem  
167 do controle, porém, diferindo significativamente de outros genótipos. Para *M. javanica*, o  
168 genótipo 16 e o controle apresentaram os maiores valores de diâmetro do colmo, (Tabela 2) os  
169 quais diferiram estatisticamente dos demais genótipos.

170 Em relação à variável altura de plantas parasitadas por *M. incognita*, os genótipos 1, 2,  
171 3, 4 e 6 (Tabela 1) apresentaram os maiores valores e, diferiram dos demais tratamentos.  
172 Quando parasitadas por *M. javanica*, os genótipos 1, 2, 4, 6, 8, 20 e 24 (Tabela 2) apresentam  
173 as maiores alturas, entretanto não diferiram do genótipo RB867515 (controle suscetível). Esse  
174 resultado é importante uma vez que a variedade comercial RB867515 se destaca pelas boas  
175 características agrônômicas que possui, e que os genótipos avaliados, mesmo sob o ataque dos  
176 fitonematoides, se comportaram de maneira similar ao genótipo controle.

177 Avaliando o número de perfilhos e de colmos das plantas inoculadas com *M.*  
178 *incognita*, os genótipos 1, 2, 7, 14, 17 e a variedade RB 92579 e os genótipos 1, 2, 3, 4, 5, 6,  
179 7, 8, 12,16, 20, 21, 22, 23 e 24 (Tabela 1), respectivamente, demonstram os maiores valores e,  
180 diferiram estatisticamente dos demais tratamentos ( $P \leq 0,05$ ). Para plantas inoculadas com *M.*  
181 *javanica*, o número de perfilhos e de colmos foram superiores para os genótipos 1, 2, 3, 7, 14,  
182 15, 16, 17, 22, 23 e variedade RB 92579 e os genótipos 1, 6, 8, 16, 17, 20, 21, 24 e 25 (Tabela  
183 2), respectivamente, e diferiram estatisticamente dos demais tratamentos.

184 Em relação ao peso fresco da parte aérea e do sistema radicular, para as plantas  
185 parasitadas com *M. incognita* os genótipos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 20 e os genótipos 1 e 2,  
186 respectivamente, destacaram-se com os maiores valores (Tabela 1), diferindo dos demais  
187 tratamentos ( $P \leq 0,05$ ). Em relação a *M. javanica*, os genótipos 1, 2, 6, 16, 20, 24 e a variedade  
188 controle (RB867515), e o genótipo 1 diferiram estatisticamente dos demais tratamentos, em  
189 comparação ao peso fresco da parte aérea e do sistema radicular, respectivamente (Tabela 2).

190 A altura da planta e a biomassa fresca do sistema radicular podem indicar que mesmo  
191 ao terem as raízes parasitadas pelo fitonematoide, as plantas conseguiram se desenvolver,  
192 sendo considerada uma possível resposta de tolerância dessas plantas ao parasitismo do  
193 nematoide. Por outro lado, a biomassa fresca da raiz pode servir como indicativo direto da  
194 ação do parasitismo dos fitonematoides, uma vez que, plantas com reduzidos sistemas  
195 radiculares, decorrentes do ataque do nematoide, podem ser consideradas intolerantes, devido

196 aos danos ocasionados. De acordo com Barker (1993), a tolerância pode ser definida como a  
197 habilidade de um hospedeiro em suportar a infecção e a reprodução do nematoide, sem danos  
198 significativos. Segundo Cook e Evans (1987), este termo deve ser utilizado exclusivamente  
199 para descrever a quantidade de lesões do hospedeiro ou supressão de rendimento.

200 Com relação ao número de ovos, os genótipos que apresentaram menores valores por  
201 sistema radicular foram 5, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 20, 21, 24 e 25, e, conseqüentemente,  
202 também possuíram os menores valores de FR, com relação a *M. incognita*, porém, sem diferir  
203 da variedade controle (RB867515). Em relação à reprodução de *M. javanica*, os genótipos  
204 com menores valores de ovos por sistema radicular foram 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 14, 16,  
205 17, 20 e 24, os quais diferiram significativamente dos demais tratamentos ( $P \leq 0,05$ ),  
206 entretanto, sem diferir significativamente do controle (RB867515) ( $P > 0,05$ ). Diferentes taxas  
207 de reprodução podem, em parte, estar associadas ao fator genético do hospedeiro, conferindo  
208 resistência ou suscetibilidade, bem como à própria característica genética das populações dos  
209 nematoides (GRIFFIN, 1982; JACQUET *et al.*, 2005; CASTAGNONE-SERENO, 2006).

210 Quanto ao número de ovos por grama de raiz, os genótipos com os menores valores  
211 foram 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 20, 21, 24, 25 e a variedades RB 92579,  
212 e os genótipos 1, 2, 3, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 17, 20, 24 e a variedades RB 92579, para *M.*  
213 *incognita* e *M. javanica*, respectivamente, diferindo dos demais tratamentos, porém sem  
214 diferir do tratamento controle (RB867515) para ambas as espécies (Tabela 1 e 2). Segundo  
215 Lordello *et al.* (1981,1983) o número de ovos por grama de raiz é um bom parâmetro para se  
216 avaliar a população, correlacionando diretamente com os danos causados pelos nematoides.

217 O fato da variedade RB867515 que foi utilizada como controle, ter apresentado  
218 reduzido número de ovos por sistema radicular e por grama de raiz, pode ser justificado pela  
219 redução no desenvolvimento do sistema radicular em decorrência do ataque dos nematoides  
220 do gênero *Meloidogyne*, e conseqüentemente essa redução pode ter afetado a reprodução dos  
221 mesmos.

222 Os valores de FR indicam que todos os genótipos avaliados foram suscetíveis  
223 ( $FR > 1,0$ ) a *M. incognita* e *M. javanica* (Tabela 1 e 2) (OOSTENBRINK, 1966). Entretanto,  
224 alguns genótipos tiveram reduzidos valores de FR quando comparado com a variedade  
225 comercial RB867515 (controle). O uso do FR possui algumas limitações, mas, ainda é o mais  
226 viável, uma vez que nem sempre são formadas as galhas visíveis, dificultando o uso de  
227 escalas baseadas na quantidade de galhas e massas de ovos produzidas (DIAS-ARIEIRA,  
228 2010).

229 Estudos avaliando as respostas de variedades de cana-de-açúcar a *M. incognita*  
230 relataram todas as variedades analisadas como suscetíveis ou altamente suscetíveis (CHAVES  
231 *et al*, 2009; SALAWU, 1990), corroborando os resultados obtidos no presente trabalho.  
232 Também os resultados aqui obtidos estão em consonância com Dias-Arieira *et al.* (2010), que  
233 ao estudarem a reprodução de *M. javanica* em cana-de-açúcar relataram suscetibilidade de  
234 todas as variedades testadas quando a classificação baseado no fator de reprodução foi  
235 utilizada. Suscetibilidade e resistência a nematoides são termos comumente usados quando a  
236 planta hospedeira permite (suscetibilidade) ou suprime (resistência) o desenvolvimento e/ou  
237 reprodução do nematoide (DE WAELE; ELSEEN, 2007).

238 Apesar do elevado fator de reprodução dos nematoides no genótipo 1, o mesmo  
239 apresentou os maiores valores de altura de planta, diâmetro de colmo, número de colmo e  
240 perfilhos, peso fresco da parte aérea e da raiz, em relação ao parasitismo das duas espécies de  
241 nematoides (Tabela 1 e 2). Desse modo, pode-se afirmar que o genótipo 1 se mostrou  
242 tolerante ao ataque as espécies de *Meloidogyne* utilizadas no experimento.

243 A despeito das diferenças encontradas, é importante salientar que o comportamento  
244 dos genótipos de cana-de-açúcar é variável e maiores populações do nematoide nem sempre  
245 resultam em redução significativa nas variáveis vegetativas da planta. Fatores ambientais  
246 podem influenciar diretamente na reprodução de espécies de *Meloidogyne*, alterando a sua  
247 dinâmica populacional. Entre os fatores abióticos que mais influenciam as populações de  
248 fitonematoides destacam-se a temperatura e umidade do solo (NORTON; NIBLACK, 1991).  
249 A temperatura do solo interfere na sobrevivência, duração do ciclo de vida e na reprodução  
250 dos nematoides (NOE, 1991), então é necessária cautela quando usando os resultados obtidos  
251 em casa de vegetação para as condições de campo.

252 Em decorrência da inexistência de material genético de cana-de-açúcar resistente aos  
253 nematoides das galhas, uma medida viável a ser utilizada seria o uso de variedades tolerantes  
254 até o momento onde fossem descobertas fontes de resistência genética as espécies *M.*  
255 *incognita* e *M. javanica*. Por esse motivo, os resultados do presente trabalho são importantes  
256 uma vez que o genótipo RB071001 se mostrou tolerante ao ataque dos fitonematoides  
257 testados no presente estudo. Trabalhos futuros devem ser realizados na tentativa de  
258 identificação de possíveis fontes de resistência aos nematoides das galhas na cultura da cana-  
259 de-açúcar, a fim de reduzir o impacto causado por esses fitopatógenos que causam grandes  
260 prejuízos ao setor sucroalcooleiro.

261

262

263

## CONCLUSÕES

264

265

266

267

268

269

270

271

272

## REFERÊNCIAS

273

274

275 ABAWI, G. S.; WIDMER, T. L. Impact of soil health management practices on soilborne  
276 pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. **Applied Soil Ecology**.  
277 Amsterdam, v. 15, n. 1, p. 37-47, 2000.

278

279

280 BARBOSA, N. M. R. **Reprodução e distribuição de nematoides do gênero *Meloidogyne***  
281 **em canaviais de Pernambuco e Paraíba**. 2013. 54f. Dissertação (Mestrado em  
282 Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013.

283

284

285 BARKER, K. R. Resistance/Tolerance and Related Concepts/Terminology in plant  
286 nematology. **Plant Disease**, St. Paul, v. 77, n. 2, 1993.

287

288

289 BERRY, S. D.; FARGETTE, M.; SPAULL, V. W.; MORAND, S.; CADET, P. Detection and  
290 quantification of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*), lesion nematode (*Pratylenchus*  
291 *zoeae*) and dagger nematode (*Xiphinema elongatum*) parasites of sugarcane using real-time  
292 PCR. **Mol Cell Probes**, London, v. 22, n. 3, p. 168-76, 2008.

293

294

295 CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese usada no estudo de  
296 enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**,  
297 Brasília, v. 25, n. 1, p. 35-44, 2001.

298

299

300 CASTAGNONE-SERENO, P. Genetic variability and adaptive evolution in parthenogenetic  
301 root-knot nematodes. **Heredity (Edinb)**, London, v. 96, n. 4, p. 282-289, 2006.

302

303

- 304 CHAVES, A.; MELO L. J. O. T.; SIMÕES NETO, D. E.; COSTA, I. G.; PEDROSA, E. M.  
305 R. Declínio Severo do Desenvolvimento da Cana-de-Açúcar em Tabuleiros Costeiros do  
306 Estado de Pernambuco. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 31, p. 10-12, 2007.  
307  
308
- 309 CHAVES, A.; PEDROSA, E. M. R.; PIMENTEL, R. M. M.; COELHO, R. S. B.;  
310 GUIMARÃES, L. M. P. MARANHÃO, S. R. V. L. Resistance induction to *Meloidogyne*  
311 *incognita* in sugarcane through mineral organic fertilizers. **Brazilian Archives of Biology**  
312 **and Technology**, Curitiba, v. 52, n. 6, p. 1393-1400, 2009.  
313  
314
- 315 COOK, R.; EVANS, K. Resistance and tolerance. In: BROWN, R. H.; KERRY, B. R. (Eds.)  
316 **Principles and practice of nematode control in crops**. New York: Academic Press. 1987. p.  
317 179-231.  
318  
319
- 320 DE WAELE, D.; ELSSEN, A. Challenges in tropical plant nematology. **Annual Review of**  
321 **Phytopathology**. Palo Alto, v. 45, p. 457-485, 2007.  
322  
323
- 324 DIAS-ARIEIRA, C. R.; SANTOS, D. A.; SOUTO, E. R.; BIELA, F.; CHIAMOLERA, F. M.;  
325 CUNHA, T. P. L.; SANTANA, S. M.; PUERARI, H. H. Reação de Variedades de cana-de-  
326 açúcar aos Nematoides-das-galhas. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 4, p. 198-203,  
327 2010.  
328  
329
- 330 DINARDO-MIRANDA, L. L.; NOVARETTI, W. R. T.; MORELLI, J. L.; NELLI, E. J.  
331 Comportamento de variedades de cana-de-açúcar em relação a *Meloidogyne javanica* em  
332 condições de campo. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 1, p. 60-66, 1995.  
333  
334
- 335 FAO - Fao-Food and Agriculture Organization. Faostat 2013. Disponível em:  
336 <<http://faostat.fao.org>> . Acesso em: 20 jun. 2015.  
337  
338
- 339 GRIFFIN, G. D. Concomitant relationships of *Meloidogyne hapla* and *Heterodera schachtii*  
340 on Tomato. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 14, n. 2, p. 444-445, 1982.  
341  
342
- 343 HAEGEMAN, A.; MANTELIN, S.; JONES, J. T.; GHEYSEN, G. Functional roles of  
344 effectors of plant-parasitic nematodes. **Gene**, Amsterdam, v. 492, n. 1, p. 19-31, 2012.  
345  
346
- 347 HUSSEY, R.; BARKER, K. Comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne*  
348 spp., including a new technique. **Plant disease reporter**, Washington, v. 57, p. 1025-1028,  
349 1973.  
350  
351
- 352 JACQUET, M.; BONGIOVANNI, M.; MARTINEZ, M.; VERSCHAVE, P.; WAJNBERG,  
353 E.; CASTAGNONE-SERENO, P. Variation in resistance to the root-knot nematode

- 354 *Meloidogyne incognita* in tomato genotypes bearing the Mi gene. **Plant Pathology**,  
355 Leicestershire, v. 54, n. 2, p. 93-99, 2005.  
356  
357
- 358 KHALLOUK, S.; VOISIN, R.; VAN GHELDER, C.; ENGLER, G.; AMIRI, S.;  
359 ESMENJAUD, D. Histological mechanisms of the resistance conferred by the Ma gene  
360 against *Meloidogyne incognita* in *Prunus* spp. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 101, n. 8, p.  
361 945-951, 2011.  
362  
363
- 364 LORDELLO, R. R. A.; LORDELLO, A. I. L.; SAWAZAKI, E.; JUNIOR, A. S. Controle de  
365 *Pratylenchus* spp. em milho com nematicidas sistêmicos e com torta de mamona.  
366 **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 7, n. 1, p. 241-250, 1983.  
367  
368
- 369 LORDELLO, L. G. E. **Nematoides das plantas cultivadas**. 6° ed. São Paulo, Nobel, 314p.  
370 1981.  
371  
372
- 373 LORDELLO, R. R. A.; LORDELLO, A. I. L.; SAWAZAKI, E.; JUNIOR, A. S. Efeito de  
374 carbofuran na população de *Pratylenchus* spp. em raiz de milho. **Nematologia Brasileira**,  
375 Brasília, v. 5, p. 35-39, 1981.  
376  
377
- 378 MITCHUM, M. G.; HUSSEY, R. S.; BAUM, T. J.; WANG, X.; ELLING, A. A.; WUBBEN,  
379 M.; DAVIS, E. L. Nematode effector proteins: an emerging paradigm of parasitism. **New**  
380 **Phytologist**, Cambridge v. 199, n. 4, p. 879-94, 2013.  
381  
382
- 383 MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R.; MARANHÃO, S. R. V. L.; MACEDO, M. E. A.;  
384 MOURA, A. M.; SILVA, E. G.; LIMA, R. L. Ocorrência dos nematoides *Pratylenchus zae* e  
385 *Meloidogyne* spp. Em cana-de-açúcar no nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**,  
386 Brasília, v. 25, n. 1, p. 101-103, 2000.  
387  
388
- 389 MOURA, R. M.; REGIS, E. M. O.; MOURA, A. M. Espécies e raças de *Meloidogyne*  
390 assinaladas em cana-de-açúcar no Estado do Rio Grande do Norte. **Nematologia Brasileira**,  
391 Brasília, v. 14, n. 1, p. 34-38, 1990.  
392  
393
- 394 NOE, J. P. Development of *Meloidogyne arenaria* on peanut and soybean under two  
395 temperature cycles. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 23, n. 4, p. 468-476, 1991.  
396  
397
- 398 NORTON, D. C.; NIBLACK, T. L. Biology and ecology of nematodes. In: NICKLE, W. R.  
399 (Ed.). **Manual of agricultural nematology**. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 47-72.  
400  
401

- 402 NOVARETTI, W. R. T.; NELLI, E. J.; DINARDO, L. L.; CARDERAN, J. O. Influência da  
403 época de plantio da cana-de-açúcar no controle químico de nematoides. **Nematologia**  
404 **Brasileira**, Brasília, v. 8, n. 1, p. 218-231, 1984.  
405  
406
- 407 OOSTENBRINK, M. **Major characteristic of the relation between nematodes and plants.**  
408 Mededelingen Landbouwhogeschool: Wageningen, 1966. 46 p.  
409  
410
- 411 ROSSO, M.-N.; HUSSEY, R. S.; DAVIS, E. L.; SMANT, G.; BAUM, T. J.; ABAD, P.;  
412 MITCHUM, M. G. Nematode Effector Proteins: Targets and Functions in Plant Parasitism.  
413 In: MARTIN, F.; KAMOUN, S. (Eds.). **Effectors in Plant–Microbe Interactions**: Wiley-  
414 Blackwell, Oxford, UK, 2011. p. 327-354.  
415  
416
- 417 SALAWU, E. O. Susceptibility and growth response of selected sugarcane cultivars to  
418 infection by *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Mediterrânea**, Bari, v. 18, n. 1, p. 63-64,  
419 1990.  
420  
421
- 422 SASSER, J. N.; CARTER, C. C.; HARTMAN, K. M. **Standardization of host suitability**  
423 **studies and reporting of resistance to root-knot nematodes.** Department of Plant  
424 Pathology, North Carolina State University: Raleigh NC, 1984. 7p.  
425  
426
- 427 STARR, J. L.; MERCER, C. F. Development of resistant varieties. In: PERRY, R. N.;  
428 MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds.). **Root-knot nematodes.** Cambridge, MA: CABI  
429 International. 2009. p. 326-337.  
430  
431
- 432 WILLIAMSON, V. M.; GLEASON, C. A. Plant–nematode interactions. **Current Opinion in**  
433 **Plant Biology**, New York, v. 6, n. 4, p. 327-333, 2003.  
434  
435  
436  
437

Tabela 1. Diâmetro de colmo (DC), altura da planta (Altura), número de perfilhos (NP), número de colmos (NC), peso fresco da parte aérea (PFPA), peso fresco da raiz (PFR), número de ovos (NO), número de ovos por g de raiz (NO/g raiz) e fator de reprodução em genótipos da série 2004, 2006 e 2007 de cana-de-açúcar, 120 dias após a inoculação (DAI), testados com relação à *Meloidogyne incognita*.

Identificação	Genótipos	DC (cm)	Altura (cm)	NP	NC	PFPA (g)	PFR (g)	NO	NO/g raiz	FR
1	RB071001	1,2 a	2,12 a	4,2 a	9,4 a	152,21 a	137,40 a	256100 a	2440 b	28,45 b
2	RB071007	1,04 a	1,99 a	2,2 a	7,4 a	138,98 a	93,60 a	174080 a	2229 b	19,34 b
3	RB071009	1,04 a	2,02 a	0,6 b	7,8 a	125,91 a	55,40 b	150380 a	2700 b	16,70 b
4	RB071036	1,2 a	2,20 a	0,6 b	9,0 a	145,14 a	40,60 c	130820 a	10824a	14,53 b
5	RB071037	0,98 a	1,90 b	1,6 b	6,6 a	95,63 a	58,0 b	68920 b	1198 b	7,65 a
6	RB071049	1,12 a	2,21 a	1,6 b	8,8 a	153,89 a	42,60 c	158640 a	4146 b	17,62 b
7	RB071055	1,16 a	1,71 b	2,6 a	5,8 a	88,86 a	61,0 b	151500 a	3014 b	16,83 b
8	RB071071	1,02 a	1,70 b	1,0 b	8,2 a	97,73 a	31,20 c	67800 b	3084 b	7,53 a
9	RB071095	1,16 a	1,71 b	0 b	5,2 b	68,08 b	22,40 c	137420 a	7535 b	15,26 b
10	RB071096	1,18 a	1,53 c	1,6 b	5,2 b	37,38 b	29,28 c	41780 b	1396 b	4,64 a
11	RB041593	1,1 a	1,43 c	0,2 b	2,2 c	44,03 b	24,75 c	66380 b	2869 b	7,37 a
12	RB041594	1,22 a	1,62 c	1,2 b	5,8 a	71,37 b	39,56 c	21220 b	688 b	2,35 a
13	RB041595	0,78 b	1,42 c	1,6 b	1,8 c	41,95 b	56,33 b	21860 b	397 b	2,42 a
14	RB041596	0,8 b	1,44 c	4,8 a	1,8 c	37,90 b	25,81 c	27800 b	1309 b	3,08 a
15	RB041597	1,06 a	1,41 c	1,2 b	4,2 b	42,40 b	66,27 b	83140 b	1141 b	9,23 a
16	RB041600	1,14 a	1,29 c	1,2 b	6,8 a	55,74 b	25,0 c	76560 b	3057 b	8,50 a
17	RB041604	0,78 b	1,04 c	2,6 a	4,6 b	34,25 b	20,0 c	326520 a	16865a	36,28 b
18	RB867515	1,08 a	1,38 c	0,2 b	4,0 b	40,14 b	42,20 c	42700 b	1100 b	4,74 a
19	RB 92579	1,02 a	1,19 c	3,4 a	5,0 b	54,22 b	31,0 c	53940 b	3115 b	5,99 a
20	RB061291	1,24 a	1,75 b	0,2 b	7,6 a	95,61 a	37,20 c	58620 b	1735 b	6,51 a
21	RB061276	1,12 a	1,51 c	0 b	7,0 a	52,15 b	22,40 c	58420 b	5572 b	6,49 a
22	RB061315	1,14 a	1,21 c	0,8 b	6,4 a	58,16 b	25,80 c	394820 a	15950a	43,86 b
23	RB061294	1,18 a	1,53 c	0,2 b	6,0 a	50,13 b	15,80 c	321116 a	23920a	35,67 b
24	RB061295	1,04 a	1,36 c	0,2 b	7,4 a	36,80 b	27,40 c	95940 b	4375 b	10,66 a
25	RB061296	1,06 a	1,10 c	0,8 b	4,2 b	33,74 b	23,20 c	142140 b	5562 b	15,79 a
	CV (%)	14,62	7,20	37,75	20,34	26,97	26,35	7,44	11,80	9,79

Os dados são médias de seis repetições, e os dados originais foram apresentados. Para análises estatísticas os dados relativos ao DC, Altura, NP, NC, PFPA e PFR foram transformados para  $\sqrt{(x+0,5)}$ . Para as variáveis NO e NO/g de raiz os dados foram transformados para  $\log_{10}(x + 1)$ . Médias seguidas da mesma letra minúscula, dentro da coluna, não diferem estatisticamente entre si. As médias foram separadas pelo teste de Scott-Knot a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Diâmetro de colmo (DC), altura da planta (Altura), número de perfilhos (NP), número de colmos (NC), peso fresco da parte aérea (PFPA), peso fresco da raiz (PFR), número de ovos (NO), número de ovos por g de raiz (NO/g raiz) e fator de reprodução em genótipos da série 2004, 2006 e 2007 de cana-de-açúcar, 120 dias após a inoculação (DAI), testados com relação à *Meloidogyne javanica*. 38

Identificação	Genótipos	DC (cm)	Altura (cm)	NP	NC	PFPA (g)	PFR (g)	NO	NO/g raiz	FR
1	RB071001	1,2 b	1,89 a	2,1 a	5,4 a	124,89 a	111,37 a	156100 b	1399 b	17,34 a
2	RB071007	1,03 c	1,93 a	2,0 a	6,8 b	122,08 a	81,224 b	112320 b	1242 b	12,48 a
3	RB071009	1,16 b	1,4 c	2,6 a	5,4 b	54,0 c	36,69 d	104780 b	2841 b	11,64 a
4	RB071036	1,12 c	1,91 a	0,6 b	6,2 b	93,96 b	22,77 d	106620 b	7605 a	11,84 a
5	RB071037	0,96 c	1,65 b	1,2 b	6,5 b	71,49 c	53,66 c	244500 b	3983 b	27,16 a
6	RB071049	1,12 c	2,04 a	1,6 b	8,8 a	153,89 a	42,60 d	52760 b	1409 b	5,86 a
7	RB071055	1,1 c	1,57 b	3,4 a	5,8 b	43,44 d	50,52 c	366260 a	6726 a	40,69 b
8	RB071071	1,02 c	1,89 a	1,0 b	8,2 a	97,73 b	31,20 d	231360 a	7729 a	25,70 b
9	RB071095	1,08 c	1,61 b	0,4 b	5,2 b	62,79 c	47,57 c	39400 b	1142 b	4,37 a
10	RB071096	1,18 b	1,53 b	1,6 b	5,2 b	37,38 d	29,28 d	60100 b	2120 b	6,67 a
11	RB041593	1,12 c	1,55 b	1,4 b	3,0 c	38,94 d	27,07 d	74200 b	2803 b	8,24 a
12	RB041594	1,22 b	1,67 b	1,4 b	6,4 b	82,93 b	45,15 c	102100 b	3316 b	11,34 a
13	RB041595	0,94 c	1,58 b	0,8 b	1,8 d	30,22 d	56,33 c	478700 a	8329 a	53,18 b
14	RB041596	0,86 c	1,38 c	3,4 a	1,2 d	34,60 d	25,81 d	54260 b	2719 b	6,02 a
15	RB041597	1,28 b	1,70 b	2,4 a	6,8 b	79,42 b	66,27 c	390560 a	8370 a	43,39 b
16	RB041600	1,6 a	1,76 a	2,8 a	12 a	133,31 a	36,69 d	79620 b	2457 b	8,84 a
17	RB041604	0,94 c	1,62 b	5,4 a	9,4 a	91,55 b	59,29 c	171640 b	2949 b	19,07 a
18	RB867515	1,46 a	1,89 a	0,2 b	7,4 b	110,66 a	42,34 d	109420 b	2769 b	12,15 a
19	RB 92579	1,24 b	1,84 a	2,8 a	7,0 b	88,33 b	42,53 d	67520 b	1799 b	7,50 a
20	RB061291	1,22 b	1,99 a	0,8 b	8,4 a	124,14 a	35,01 d	57760 b	1865 b	6,41 a
21	RB061276	1,16 b	1,82 a	0,4 b	8,6 a	77,64 b	91,02 b	518680 a	5313 a	57,63 b
22	RB061315	0,96 c	1,30 c	1,8 a	3,6 c	35,50 d	54,55 c	282560 a	5703 a	31,39 b
23	RB061294	1,22 b	1,81 a	2,8 a	7,4 b	106,87 b	42,85 d	849400 a	23982 a	94,37 b
24	RB061295	1,12 c	1,94 a	0,6 b	9,6 a	114,08 a	52,98 c	97620 b	1770 b	10,84 a
25	RB061296	1,28 b	1,63 b	1,0 b	8,2 a	72,86 c	108,69 b	1236940 a	11626 a	137,43 b
	CV (%)	14,35	12,56	35,06	15,76	16,58	20,36	8,16	12,49	13,67

Os dados são médias de seis repetições, e os dados originais foram apresentados. Para análises estatísticas os dados relativos ao DC, Altura, NP, NC, PFPA e PFR foram transformados para  $\sqrt{(x+0,5)}$ . Para as variáveis NO e NO/g de raiz os dados foram transformados para  $\log_{10}(x + 1)$ . Médias seguidas da mesma letra minúscula, dentro da coluna, não diferem estatisticamente entre si. As médias foram separadas pelo teste de Scott-Knot a 5% de probabilidade.

## Capítulo III

---

---

### **Penetração, desenvolvimento e reprodução de nematoídes das galhas em cana-de-açúcar**

## Penetração, desenvolvimento e reprodução de nematoides das galhas em cana-de-açúcar<sup>1</sup>

Matheus Silva e Silva<sup>2\*</sup> • Elvira Maria Régis Pedrosa<sup>3</sup> • Alain Denis de Sousa<sup>2</sup> • Carmem Lúcia Pereira Abade<sup>2</sup> • Sandra Roberta Vaz Lira Maranhão<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Parte da tese do primeiro autor. <sup>2</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco Departamento de Agronomia, Brasil. <sup>3</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco Departamento de Engenharia Agrícola, Brasil. \* Autor para correspondência: Universidade Federal Rural de Pernambuco Departamento de Agronomia, Dois Irmãos, Recife, PE, Brasil, CEP: 52171-900, email: [matheus.silvaesilva@gmail.com](mailto:matheus.silvaesilva@gmail.com); Phone: +55 (81) 9965-4513

### Abstract

Sugarcane plays an important economic and social role in Brazilian and worldwide agriculture. Although several nematode species, especially the root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*, have been found damaging the crop, all commercial varieties are susceptible inducing high economic losses. Searching for resistance mechanisms, this work had as objective evaluating penetration, development and reproduction of *M. incognita* and *M. javanica* in genotypes RB of sugarcane. Five genotypes RB, selected in previous screening, had soil infested with 20000 eggs per plant of *M. incognita* and *M. javanica* and, after 5, 10, 15, 20, 40 and 60 days, roots were evaluated. There was penetration of second stage juveniles in all genotypes at five days after inoculation. The number of juveniles inside roots differed significantly ( $P \leq 0.05$ ) within genotypes in all evaluation times. In spite of it was found adult females in all genotypes, there was no evidence of egg-laying female. The genotype RB071095 retarded development of both nematode species. No egg production was detected at 45, but at 60, days after inoculation. The genotypes RB 041594 and RB071095 showed the lower number of eggs per root system for *M. javanica* and *M. incognita*, respectively. RB071095 presented low rate of nematode penetration, development

and reproduction, and RB041594 showed reduction on nematode penetration and reproduction. These genotypes should have any kind of resistance to *M. incognita* and *M. javanica* parasitism in sugarcane.

**Keywords** *Saccharum* spp., Resistance, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*

## Resumo

A cana-de-açúcar tem importante papel econômico e social na agricultura brasileira e mundial. Embora seja parasitada por diversas espécies de nematoides, especialmente os nematoides das galhas *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*, todas as variedades comerciais são suscetíveis o que leva a sérias perdas econômicas. Buscando estudar possíveis mecanismos de resistência, esse trabalho teve como objetivo avaliar a penetração, desenvolvimento e reprodução das espécies *M. incognita* e *M. javanica* em genótipos RB de cana-de-açúcar. Cinco genótipos RB de cana-de-açúcar, selecionados em ensaios preliminares, tiveram o solo infestado com 20.000 ovos de *M. incognita* e *M. javanica* por planta e após 5, 10, 15, 20, 40 e 60 dias tiveram as raízes avaliadas. Houve penetração de juvenis de segundo estágio, em todos os genótipos aos cinco dias após a inoculação. O número de juvenis no interior das raízes diferiu estatisticamente ( $P \leq 0,05$ ) nos genótipos testados, em todos os tempos de avaliação. O desenvolvimento dos nematoides no interior das raízes diferiu significativamente entre os genótipos e, embora em todos os genótipos tenham sido encontradas fêmeas adultas, não se evidenciou fêmeas produzindo ovos. O genótipo RB071095 mostrou atraso no desenvolvimento das duas espécies de nematoides. Aos 45 dias após a inoculação não foi evidenciada a presença de ovos em nenhum genótipo testado, o que só ocorreu aos 60 dias após a inoculação. Os genótipos RB071095 e RB041594 apresentaram os menores valores de ovos por sistema radicular, para *M. javanica* e *M. incognita* respectivamente. O genótipo RB071095 se destacou apresentando reduzidos níveis de penetração, atraso no desenvolvimento e baixa reprodução dos nematoides, enquanto que o genótipo RB041594 apresentou reduzida penetração e reprodução das espécies de nematoides. Esses genótipos podem apresentar algum tipo de resistência ao parasitismo de *M. incognita* e *M. javanica* em cana-de-açúcar.

**Palavras-chave** *Saccharum* spp., Resistência, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*

## Introdução

O Brasil é o líder mundial em produção de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), participando com aproximadamente 40% da produção mundial (Fao, 2013). No Brasil, o cultivo de cana-de-açúcar ocupa uma área superior a nove milhões de hectares, com produção de 634,8 milhões de toneladas. Em 2014, a produção sofreu uma queda de 3,6% em relação à safra anterior, o que está diretamente relacionado à queda na produtividade (Conab, 2015). Dentre os fatores que atuam reduzindo a produtividade deste monocultivo, tem se destacado a ação dos nematoides parasitos de plantas que, em altas densidades populacionais, causam grandes danos a cultura, além de servir como indicador do desequilíbrio desse modelo de agroecossistema (Rossi e Lima 2007).

Mais de 310 espécies de 48 gêneros de nematoides endo e ectoparasitas associados com solo da rizosfera e raízes foram verificadas em cana-de-açúcar (Cadet e Spull 2005). Com relação aos prejuízos causados à cultura, três espécies ganham destaque nacional: os endoparasitos sedentários *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White) Chitwood e *M. javanica* (Treb) Chitwood e o endoparasito migrador *Pratylenchus zae* Graham (Caixeta et al. 2011). Em canaviais pouco desenvolvidos e com baixa produção, elevadas densidades populacionais de pelo menos uma dessas espécies são encontradas (Dinardo-Miranda 2005). As espécies *M. incognita* e *M. javanica*, em média, podem causar perdas em torno de 60% e 40% em variedades suscetíveis, respectivamente. Os danos podem variar em função da espécie (ou espécies) do nematoide presente na área, densidade populacional e tolerância/susceptibilidade do hospedeiro (Dinardo-Miranda 2005).

Os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) são patógenos importantes para muitos cultivos de plantas, pois representam um dos gêneros mais polípagos e prejudiciais aos mais diversos cultivos em todo o mundo. *Meloidogyne* spp. são endoparasitos obrigatórios que possuem a capacidade de infectar uma ampla gama de espécies de plantas, instalando-se no interior das raízes, para completar o ciclo de vida, alimentando-se do conteúdo celular do hospedeiro (Elling 2013; Williamson e Gleason 2003). O juvenil de segundo estágio (J2) penetra nas raízes na zona de alongação ou locais de ramificação da raiz e migra através do espaço intercelular até o cilindro vascular para iniciar o desenvolvimento do sítio de alimentação. Para penetrar nas raízes, o J2 pode usar a combinação de danos físicos causados pelo uso do estilete e a quebra da parede celular através do uso de enzimas celulolíticas e pectinolíticas (Abad et al. 2008; Opperman et al. 2008; Danchin et al. 2010). Durante a formação do sítio de alimentação, algumas células se tornam hipertrofiadas, com intensa multiplicação celular e hiperplasia, resultando na formação das células gigantes e das galhas.

Após o estabelecimento, o J2 sofre três ecdises antes de se tornar adulto. A fêmea madura deposita os ovos numa matriz gelatinosa produzida através da glândula retal. Juvenis (J2) decorrentes desses ovos, irão iniciar um novo ciclo de infecção.

Em áreas com elevadas densidades populacionais de *Meloidogyne* spp. observam-se manchas em reboleiras nas lavouras, com plantas pouco desenvolvidas. Muitas vezes os sintomas causados por esses micro-organismos podem ser confundidos com deficiências nutricionais, baixa fertilidade do solo, podridão de raízes, e estresse hídrico. Na parte aérea da planta podem ser observados desenvolvimento irregular, amarelecimento, murcha e enfezamento de plantas, enquanto que, nas raízes os sintomas apresentados são galhas com intumescimento das extremidades (Kimat et al. 2005). Para reduzir os danos causados são necessárias práticas agrícolas que visem reduzir a densidade populacional desses organismos e conseqüentemente os danos resultantes.

O controle dos nematoides das galhas é difícil, o uso de nematicidas aumenta o custo de produção, e nem sempre é eficaz, além de serem prejudiciais ao ambiente e a saúde humana (Bird e Kaloshian 2003). Por esse motivo, a resistência de plantas é constantemente escolhida como o método de manejo para os nematoides das galhas. A resistência pode ser usada em vários níveis do ciclo de infecção do nematoide na planta hospedeira (Cabasan et al. 2012).

A resistência é usada muitas vezes para descrever a habilidade da planta para suprimir o desenvolvimento e a reprodução do nematoide (López-Gomez e Verdejo-Lucas 2014). Os mecanismos de resistência do hospedeiro atuam prevenindo o desenvolvimento de *Meloidogyne* em diferentes plantas. A reação de hipersensibilidade é a mais comum dentre os mecanismos (Freitas 2014), outros mecanismos são a resistência de pré- e pós-infecção. Na resistência de pré-infecção, os exsudatos repelem o J2 ou são tóxicos aos mesmos (Fassuliotis 1979). Enquanto que a resistência de pós-infecção só ocorre após J2 penetrar na raiz, onde o sítio de alimentação não se desenvolve completamente (Cook e Evans 1987; Walters 2006).

Embora o desenvolvimento de variedades resistentes aos nematoides das galhas tenha sido realizado com sucesso em várias culturas, a exemplo de algodão, amendoim, pimenta, tomate e tabaco (Ogallo et al. 1997; Simpson e Starr 2001; Starr et al. 2002; Thies e Fery 2003; Starr e Mercer 2009), ainda não existem variedades de cana-de-açúcar disponíveis que sejam resistentes a *M. incognita* e *M. javanica*. Desse modo, a caracterização dos mecanismos de resistência em cana-de-açúcar a esses nematoides facilitaria a compreensão de uma potencial fonte de resistência.

Diante dos pressupostos, o objetivo do presente estudo foi avaliar os níveis de penetração, o desenvolvimento após a penetração e a reprodução de *M. incognita* e *M. javanica* em genótipos de cana-de-açúcar.

## **Material e métodos**

### **Obtenção dos Genótipos**

Os genótipos da sigla RB (República do Brasil) avaliados são pertencentes ao Programa de Melhoramento Genético de Cana-de-açúcar da Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina (EECAC). Foram testados os seguintes genótipos: RB071001, RB071095, RB041594 e RB061291. O plantio dos rebolos de cana-de-açúcar foi realizado em copos de poliestireno com capacidade de 500 ml. O experimento foi conduzido em casa de vegetação durante todo o estudo, com temperatura média de 30°C ±5 e UR 60%. As plantas foram irrigadas diariamente e fertilizadas quinzenalmente com a solução mineral Raiz West® 6-6-6 (N-P-K). A variedade comercial RB867515 foi selecionada como tratamento controle (suscetível).

### **Obtenção das populações**

As populações de nematoides foram obtidas em áreas cultivadas com cana-de-açúcar pertencentes ao estado de Pernambuco (Brasil), apresentando sintomas de meloidoginose. As amostras provenientes do campo constituídas de solo e raízes foram acondicionadas em sacos plásticos e encaminhadas à casa de vegetação do Departamento de Fitossanidade, Laboratório de Nematologia da UFRPE. Posteriormente, essas amostras foram depositadas em vasos com capacidade para 5L e, em seguida, uma muda de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Santa Cruz, com aproximadamente 20 dias de idade, foi transplantada para cada um dos vasos com o objetivo de multiplicar as populações de *Meloidogyne* spp. para posterior caracterização bioquímica.

### **Espécies de nematoides**

A identificação das espécies foi realizada através do fenótipo esterase (Est) (Carneiro e Almeida 2001). Antes da inoculação, as populações de *M. incognita* e *M. javanica* foram

multiplicadas em tomateiro (*S. lycopersicum* cv. Santa Cruz) por 45 dias em condições de casa de vegetação. Os ovos foram extraídos de raízes infectadas usando hipoclorito de sódio (NaOCl a 0,5%) de acordo a metodologia proposta por Hussey e Barker (1973). Para os estudos da penetração, desenvolvimento e reprodução do nematoide, foram inoculados 20.000 ovos por planta da cana. A contagem foi realizada sobre microscópio óptico com o auxílio da lâmina de Peter's.

### **Respostas biológicas ao nematoide**

Três experimentos separados foram conduzidos para avaliar a penetração, o desenvolvimento e a reprodução de *M. incognita* e *M. javanica* em cinco genótipos de cana-de-açúcar. Os genótipos selecionados demonstraram reduzida reprodução do nematoide e, foram selecionados em ensaios preliminares.

### **Penetração dos nematoides na raiz**

Visando determinar o número de juvenis no interior das raízes após a inoculação, os genótipos RB selecionados, foram inoculados com 20.000 ovos por planta, com auxílio de uma pipeta graduada, depositando-se a suspensão que continha os ovos em quatro orifícios, em torno das raízes. A obtenção dos ovos seguiu metodologia descrita por Hussey e Barker (1973). O número de nematoides no interior das raízes foi determinado aos 5, 10, 15 e 20 dias após a inoculação (DAI), utilizando a técnica de coloração com fucsina ácida descrita por Byrd et al. (1983). O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 5 (número de genótipos)  $\times$  2 (espécies do nematoide) com seis repetições para cada período.

### **Desenvolvimento do nematoide**

Foi conduzido para acompanhar a evolução dos juvenis até o estágio adulto e a produção de ovos, procurando associar o gradiente de resistência do genótipo ao comprimento do ciclo vital do nematoide. A metodologia utilizada foi descrita no item anterior, exceto as avaliações relativas ao desenvolvimento que foram realizadas aos 15, 20 e 40 DAI. Para as avaliações de desenvolvimento dos juvenis, as raízes foram separadas da parte aérea, tratadas com hipoclorito de sódio (NaOCl a 1%), e depois lavadas em água corrente e coloridas com

fucsina ácida de acordo com Byrd et al. (1983). Os estádios de desenvolvimento dos juvenis (2º, 3º, 4º estádios e adultos) no interior das raízes foram determinados sob microscópio estereoscópico. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 5 (número de genótipos) × 2 (espécies do nematoide) com seis repetições.

### **Reprodução do nematoide**

Para avaliar a reprodução do nematoide aos 45 e 60 DAI, os genótipos foram inoculados com 20.000 ovos do nematoide/planta, distribuindo a suspensão contendo os ovos em quatro orifícios ao redor do colmo da planta de cana-de-açúcar. As plantas foram mantidas em casa de vegetação durante todo o estudo. O arranjo experimental usado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial com seis repetições. Para a avaliação, as raízes coletadas foram lavadas para retirar o solo, pesadas, cortadas em fragmentos de aproximadamente 1-2 cm e tratadas com hipoclorito de sódio (NaOCl a 1%) para extrair os ovos presentes (Hussey e Barker 1973). Os ovos foram contados com auxílio da lâmina de Petter's em microscópio óptico.

### **Análises estatísticas**

Dados referentes à penetração e a reprodução de *M. incognita* e *M. javanica* nos genótipos de cana-de-açúcar, foram transformados com  $\log_{10}(x+1)$  para normalizar as médias, e os dados não transformados foram mostrados. As análises estatísticas foram realizadas usando o programa Statistix 9.0 © (Analytical Software, Tallahassee, FL). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a separação de médias realizada através do teste de Tukey HSD (Honestly Significant Difference) ao nível de 5% probabilidade. Dados referentes ao desenvolvimento do nematoide foram submetidos ao teste do Qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade usando o programa SAS versão 8.0 © (SAS institute Inc. Cary, NC).

## **Resultados**

### **Penetração dos nematoides na raiz**

Aos cinco DAI, foi visualizada a presença de juvenis de segundo estádio (J2) em todos os genótipos testados, para as duas espécies de nematoides. Não houve diferença significativa

( $P > 0,05$ ) entre as espécies de nematoides, com relação ao número de juvenis, que penetraram nas raízes dos genótipos, para todos os tempos avaliados. Entretanto, foram identificadas diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre os genótipos testados e o controle, com relação à quantidade de juvenis no interior das raízes, para todos os tempos de avaliação (Fig. 1). Com relação à quantidade de nematoides por g/raiz, também foram encontradas diferenças significativas entre os genótipos e o controle (Fig. 2).

Os genótipos RB071095 e RB041594 mostraram os menores valores de nematoides no interior das raízes, em todos os períodos de avaliação e diferiram do controle (RB867515) em todos os tempos de avaliação ( $P < 0,05$ ) (Fig. 1). Em contrapartida, os genótipos RB071001 e RB061291, não diferiram da variedade RB867515 em nenhum dos períodos de avaliação. Aos cinco DAI apenas J2 foram encontrados no interior das raízes em todos os tratamentos. Aos 10 DAI houve aumento no número de J2 de *M. incognita* no interior das raízes dos genótipos testados, exceto para o controle (RB867515). Em relação ao número de J2 de *M. javanica* no interior das raízes, os genótipos RB041594, RB061291 e o controle, apresentaram aumento na quantidade de juvenis no sistema radicular no referido tempo (Fig. 1). Entre os 10-15 DAI foram visualizados J2 e juvenis do terceiro estágio (J3) no interior das raízes em todos os tratamentos. Aos 15 DAI foi evidenciada redução do número de J2 de *M. javanica* no interior das raízes do genótipo RB071095 e da variedade RB867515 (controle) (Fig. 1 e 2). Os genótipos RB071001 e RB061291 apresentaram os maiores valores de J2 de *M. javanica* e *M. incognita*, respectivamente, aos 15 DAI.

### **Desenvolvimento dos nematoides**

Houve diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre os estádios de desenvolvimento J2, J3/J4 e fêmeas, tanto em relação às espécies dos nematoides como também em comparação entre os genótipos testados, para todos os períodos de avaliação. Aos 15 e 20 DAI os J2 se desenvolveram para J3 e J4 em todos os genótipos testados, para as duas espécies do nematoide, mas em proporções diferentes (Fig. 3a e 3b). Aos 40 DAI, foram visualizadas fêmeas em todos os genótipos analisados, para as duas espécies de nematoides (Fig. 3c), mas não foram encontradas massas de ovos em nenhum dos genótipos analisados. Os genótipos RB071095 e RB041594 demonstraram os menores valores de J3/J4 e fêmeas no interior das raízes para ambas as espécies de nematoides (Dados não apresentados). Em relação ao desenvolvimento no interior das raízes das espécies *M. incognita* e *M. javanica* aos 40 DAI, em todos os genótipos testados o número de fêmeas formadas foi superior em *M. incognita*. O

genótipo RB071095 apresentou maior atraso no desenvolvimento das fêmeas adultas ( $P \leq 0,05$ ) em comparação aos demais genótipos (inclusive o controle) em relação às duas espécies de nematoides, destacando-se com relação a *M. javanica*. A proporção de fêmeas formadas aos 40 DAI no genótipo RB071095 foi de 0,01 e 0,12, respectivamente, para *M. javanica* e *M. incognita*.

### **Reprodução dos nematoides**

Não foram encontrados ovos em nenhum dos genótipos e testados, incluindo o controle, aos 45DAI para ambas as espécies de nematoides analisadas no presente estudo, mas foram visualizados J3, J4 e fêmeas nesse tempo de avaliação. Aos 60 DAI, houve diferença significativa entre os genótipos testados e o controle ( $P \leq 0,05$ ) entre e dentro das espécies de nematoides estudadas. Os genótipos RB071095 e RB041594 obtiveram os menores valores de ovos por raiz, para *M. javanica* e *M. incognita*, respectivamente (Tabela 1). A produção de ovos em *M. javanica* foi superior a *M. incognita* nos genótipos avaliados, incluindo o controle, excetuando-se apenas o genótipo RB071095. O maior número de ovos foi obtido na variedade comercial RB867515 (Tabela 1).

### **Discussão**

Todos os genótipos foram parasitados pelos isolados de *M. incognita* e *M. javanica* e, diferenças entre a penetração, o desenvolvimento e a reprodução dos nematoides foram detectadas. Hospedeiros resistentes podem expressar uma resistência pré-infeccional na superfície da raiz, sendo isso, atribuído à capacidade do hospedeiro em limitar a invasão das raízes pelo J2, e não em função de atração as raízes do hospedeiro (Cabasan et al. 2012). Entretanto, compostos aleloquímicos liberados na rizosfera podem afetar o comportamento do nematoide e, desse modo, alterar o processo de reconhecimento do hospedeiro (Dutta et al. 2011).

As respostas dos genótipos RB071095 e RB041594, com relação à penetração de J2 nas raízes, sugerem que um possível mecanismo pré-infeccional não esteja associado ao isolado do nematoide. Em trabalho realizado com diferentes espécies de cucurbitáceas, *M. incognita* e *M. javanica* apresentaram padrão similar de penetração, infecção e reprodução em melão e pepino (López-Gomez e Verdejo-Lucas 2014). Confirmando os resultados obtidos no presente trabalho, onde não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre a penetração de *M.*

*incognita* e *M. javanica* quando comparadas no mesmo genótipo. Faske (2013) sugeriu como primeiro efeito da resistência, a redução da penetração de *M. incognita* em raízes de *Cucumis melo* var. *texanus* e *C. metuliferus* com relação ao controle. Vários outros estudos sobre a relação entre *Meloidogyne* spp. e o hospedeiro, tais como *M. javanica* em cenoura, *M. incognita* em soja/pimenta/caupi/pimentão, *M. arenaria* em amendoim e *M. graminicola* em arroz, relatam que a penetração do J2 é inferior em plantas resistentes com relação as suscetíveis (Huang 1986; Niblack et al. 1986; Blevé-Zacheo et al. 1998; Anwar e McKenry 2000; Bendezu e Starr 2003; Das et al. 2008; Moon et al. 2010; Cabasan et al. 2012; Cabasan et al. 2014). Isso pode indicar que os genótipos RB071095 e RB041594 sejam promissoras fontes de resistência ao parasitismo de *Meloidogyne* spp. em cana-de-açúcar, mas outros estudos devem ser realizados a fim de confirmar essa hipótese.

Por outro lado, ao analisar a taxa de penetração de J2 entre *C. metuliferus* (resistente) e o controle (suscetível), não foram evidenciados diferenças entre as taxas de penetração (Fassuliotis 1970; Walters et al. 2006), o mesmo ocorreu em *Psidium* spp. resistentes, onde não existiu diferença na penetração de J2 em comparação a espécie suscetível (Freitas 2014). Outro efeito que pode atuar sobre o número de J2 encontrados nas raízes é a taxa de emigração, onde os juvenis podem ter falhado no momento de estabelecer o sítio de alimentação (Faske 2013). Levantando a hipótese que o mesmo tenha acontecido no presente trabalho, onde foi constatada redução na quantidade de J2 no interior das raízes no genótipo RB071095 e no controle RB867515 aos 15 DAI.

Em todos os genótipos testados, aos 40 DAI foram encontradas fêmeas, mas, em nenhum momento, foram encontradas fêmeas com massas de ovos. Isso pode indicar que as espécies de *Meloidogyne* usadas no presente estudo, possuam ciclo de vida superior a 40 dias. O ciclo de vida de espécies de *Meloidogyne* spp. pode durar de 15-45 dias, dependendo da planta hospedeira e das condições ambientais (Triantaphyllou e Hirschmann 1960; Perry e Moens 2011).

Apesar do maior atraso no desenvolvimento dos isolados de *M. incognita* e *M. javanica* nos genótipos RB071095 e RB071001 em comparação ao controle (RB867515), em todos os genótipos testados foram encontradas fêmeas adultas, sugerindo que os fatores pós-penetração, que suprimem o desenvolvimento dos nematoides, tiveram pouco ou nenhum efeito sobre os indivíduos que atingiram a maturidade (Faske 2013). Atraso no desenvolvimento ou redução da taxa de desenvolvimento de *M. incognita* já foi relatado em outros estudos (Fassuliotis 1970; Walters et al. 2006). Faske (2013) ao encontrar galhas vazias em *C. melo* var. *texanus* sugeriu que os juvenis se transformaram em macho e saíram

das raízes. Aumento da taxa entre fêmeas/machos em *C. myriocarpus* foi relatada por Pofu e Mashela (2011). Quando as condições ambientais não são favoráveis ao desenvolvimento do nematoide, e os juvenis não conseguem estabelecer locais apropriados de alimentação, a conversão em machos é comum (Fassuliotis 1970; Williamson e Hussey 1996; Pofu e Mashela 2011; Freitas et al. 2014).

No genótipo RB041594, houve reduzida penetração em comparação ao RB071001, porém com relação ao desenvolvimento das espécies de nematoides após a penetração, no genótipo RB071001, o atraso no desenvolvimento dos nematoides foi superior. Evidenciando que mesmo ocorrendo reduzida penetração, o juvenil poderá se desenvolver adequadamente no interior das raízes.

O reduzido desenvolvimento de *M. javanica* no genótipo RB071095 foi demonstrado pelos baixos valores de J3/J4 e fêmeas encontradas em comparação com o tratamento controle. O subdesenvolvimento do sítio de alimentação do nematoide, incapaz de fornecer os nutrientes suficientes para o desenvolvimento do mesmo, pode explicar uma possível interação de incompatibilidade (López-Gomez e Verdejo-Lucas 2014). Esse mecanismo já foi sugerido em cucurbitáceas resistentes aos nematoides das galhas (Walters et al. 2006). Os nematoides das galhas exigem uma quantidade considerável de nutrientes para a produção de ovos (Hussey 1985), já tendo sido observado que o desenvolvimento do nematoide está associado ao desenvolvimento do sítio de alimentação (Paulson e Webster 1970). Todavia, infecções associadas com desenvolvimento normal do sítio de alimentação, em plantas resistentes, também foram relatadas em interações entre nematoides com algodão, *Cucumis* e feijão-caupi (McClure et al. 1974; Walters et al. 2006; Das et al. 2008).

Numa interação compatível, a formação de células gigantes é associada às diferentes fases de desenvolvimento do nematoide (Bird e Kaloshian 2003). Porém, numa interação incompatível, a reação de hipersensibilidade causa a morte celular e necroses, impedindo a formação do sítio de alimentação do nematoide e influenciando no seu desenvolvimento (Gheysen et al. 2006). Reduzidas taxas de desenvolvimento, tamanho das fêmeas e fecundidade, em genótipos de arroz resistentes, indicam como diferentes interações ocorrem entre o nematoide e os hospedeiros resistentes e suscetíveis (Cabasan et al. 2012).

O fato de aos 45 DAI não terem sido extraídos ovos das raízes, pode ser justificado pelos resultados obtidos na avaliação de desenvolvimento dos nematoides no interior das raízes, onde, não foi evidenciada a presença de fêmea com massa de ovos. Por outro lado, a presença de J3/J4 e fêmeas visualizadas confirmam que houve penetração dos nematoides no interior das raízes, indicando que, algum fator abiótico ou biótico possa ter influenciado no

comprimento do ciclo do nematoide. O atraso no desenvolvimento das fêmeas resultou em poucas fêmeas produzindo ovos e em baixos valores do total de reprodução de *M. incognita* em algodão. Entretanto, o número de ovos por massa de ovos foi similar em todos os genótipos (Faske e Starr 2009), indicando que mesmo havendo atraso no desenvolvimento da fêmea, ao alcançar a maturidade, a mesma realiza ovoposição proporcional ao das fêmeas que atingiram a maturidade mais cedo. A reduzida reprodução aos 60 DAI reforça a hipótese que o ciclo das espécies *M. incognita* e *M. javanica* em cana-de-açúcar seja superior a 40 dias ou que a ovoposição seja reduzida quando comparada a outras espécies de plantas cultivadas.

Os resultados obtidos no presente estudo são importantes por fornecerem informações relevantes sobre as respostas de diferentes genótipos de cana-de-açúcar em relação ao parasitismo de *M. incognita* e *M. javanica*, uma vez que praticamente não existem trabalhos sobre os mecanismos envolvidos na interação entre *Meloidogyne* e cana-de-açúcar. Elucidar e compreender os mecanismos envolvidos na interação nematoide e hospedeiro poderá servir como critério para a criação e seleção de genótipos resistentes. Outra ferramenta que poderá esclarecer, ainda mais, os mecanismos de resistência envolvidos na resposta do hospedeiro ao ataque do nematoide é o uso de ferramentas moleculares indicando os produtos expressos pelo hospedeiro e, desse modo, fornecendo informações chaves sobre a interação entre *Meloidogyne* e cana-de-açúcar.

Pode-se concluir que o genótipo RB071095 destacou-se apresentando reduzida penetração, atraso no desenvolvimento e baixa reprodução das espécies de nematoides. Já o genótipo RB041594 apresentou reduzida penetração e baixa reprodução das espécies de nematoides. Possivelmente, esses genótipos podem apresentar algum tipo de resistência ao parasitismo das espécies de nematoides utilizadas no presente estudo. E eventualmente serem utilizados para cruzamentos em programas de melhoramento genético da cana-de-açúcar no desenvolvimento de variedades resistentes.

## Referências bibliográficas

- Abad, P., Gouzy, J., Aury, J. M., Castagnone-Sereno, P., Danchin, E. G., Deleury, E., et al. (2008). Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Nat Biotechnol*, 26(8), 909-915.
- Anwar, S. A., & McKenry, M. (2000). Penetration, development and reproduction of *Meloidogyne arenaria* on two new resistant *Vitis* spp. *Nematropica*, 30(1), 9-17.

- Bendezu, I. F., & Starr, J. L. (2003). Mechanism of resistance to *Meloidogyne arenaria* in the peanut cultivar COAN. *Journal of Nematology*, 35(1), 115-118.
- Bird, D. M., & Kaloshian, I. (2003). Are roots special? Nematodes have their say. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 62(2), 115-123.
- Bleve-Zacheo, T., Bongiovanni, M., Melillo, M. T., & Castagnone-Sereno, P. (1998). The pepper resistance genes *Me 1* and *Me 3* induce differential penetration rates and temporal sequences of root cell ultrastructural changes upon nematode infection. *Plant Science*, 133, 79-90.
- Byrd, D. W., Kirkpatrick, J. T., & Barker, K. R. (1983). An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. *Journal of Nematology*, 15(1), 142-143.
- Cabasan, M. T. N., De Waele, D., & Kumar, A. (2012). Comparison of migration, penetration, development and reproduction of *Meloidogyne graminicola* on susceptible and resistant rice genotypes. *Nematology*, 14(4), 405-415.
- Cabasan, M. T. N., Kumar, A., Bellafiore, S., & De Waele, D. (2014). Histopathology of the rice root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola*, on *Oryza sativa* and *O. glaberrima*. *Nematology*, 16(1), 73-81.
- Cadet, P., & Spaul, V. W. (2005). Nematode parasites of sugarcane. In M. Luc, R. A. Sikora, & J. Bridge (Eds.), *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture* (pp. 645 – 674). Cambridge: CABI Publishing.
- Caixeta, L. B., Pedrosa, E. M. R., Guimarães, L. M. P., Barros, P. A., & Rolim, M. M. (2011). Variações no solo e nematofauna após o corte da cana-de-açúcar e aplicação de vinhaça. *Nematropica*, 41(2), 271-280.
- Carneiro, R. M. D. G., & Almeida, M. R. A. (2001). Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. *Nematologia Brasileira*, 25(1), 35-44.
- CONAB (2015) Acompanhamento da Safra Brasileira. [http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/1\\_levantamento2015\\_abr2015.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/1_levantamento2015_abr2015.pdf) f. Acessado em 27 Junho 2015.

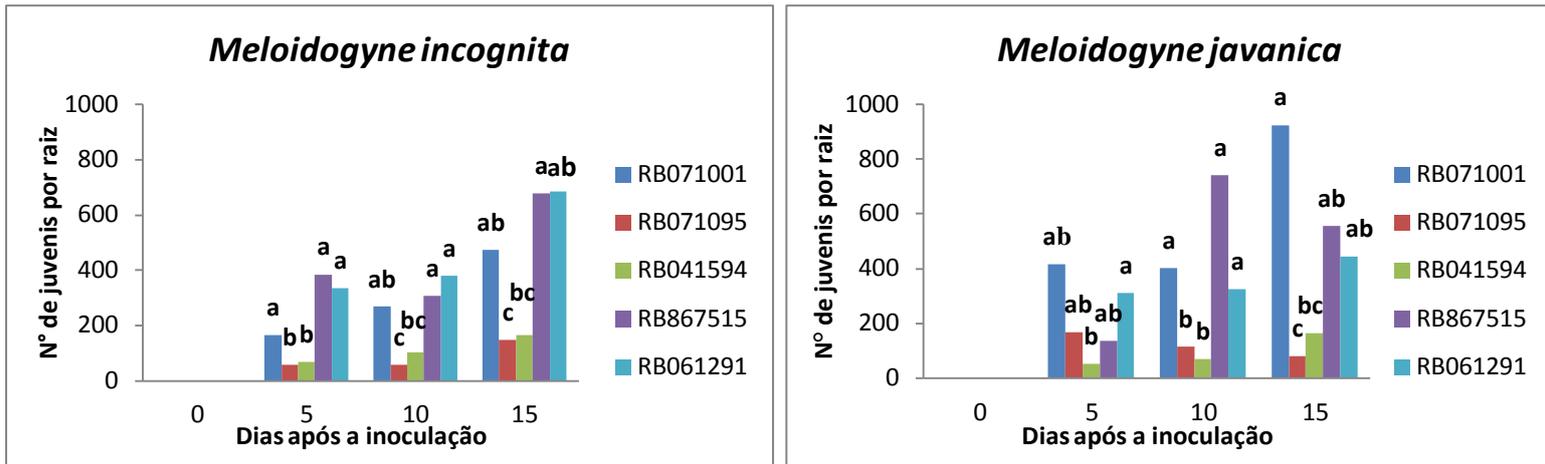
- Cook, R., & Evans, K. (1987). Resistance and tolerance. In: R. H. Brown & B. R. Kerry (Eds.), *Principles and practice of nematode control in crops* (pp. 179 – 231). New York: Academic Press.
- Danchin, E. G., Rosso, M. N., Vieira, P., de Almeida-Engler, J., Coutinho, P. M., Henrissat, B., et al. (2010). Multiple lateral gene transfers and duplications have promoted plant parasitism ability in nematodes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *107*(41), 17651-17656.
- Das, S., DeMason, D. A., Ehlers, J. D., Close, T. J., & Roberts, P. A. (2008). Histological characterization of root-knot nematode resistance in cowpea and its relation to reactive oxygen species modulation. *J Exp Bot*, *59*(6), 1305-1313.
- Dinardo-Miranda, L. L. (2005). Manejo de nematóides em cana-de-açúcar.
- Dutta, T., Gaur, H., Powers, S., Curtis, R., & Kerry, B. (2011). Comparison of host recognition, invasion, development and reproduction of *Meloidogynegraminicola* and *M. incognita* on rice and tomato. *Nematology*, *13*(5), 509-520.
- Elling, A. A. (2013). Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. *Phytopathology*, *103*(11), 1092-1102.
- Fao (2013). *Faostat*. Resourcedatabase. [http://http://faostat3.fao.org/browse/rankings/countries\\_by\\_commodity/S](http://http://faostat3.fao.org/browse/rankings/countries_by_commodity/S). Acessado em 27 Junho 2015.
- Faske, T. R. (2013). Penetration, Post-penetration Development, and Reproduction of *Meloidogyne incognita* on *Cucumis melo* var. texanus. *Journal of Nematology*, *45*(1), 58-65.
- Faske, T. R., & Starr, J. L. (2009). Mechanism of resistance to *Meloidogyne incognita* in resistant Cotton genotypes. *Nematropica*, *39*(2), 281-288.
- Fassuliotis, G. (1970). Resistance of *Cucumis* spp. to the Root-knot Nematode, *Meloidogyne incognita* acrita. *Journal of Nematology*, *2*(2), 174-178.
- Fassuliotis, G. (1979). Plant breeding for root-knot nematode resistance. In F. Lamberti & C. E. Taylor (Eds.), *Root-knot nematodes (Meloidogyne species)*. Systematics, biology and control (pp. 425 – 123). London & New York: Academic Press.
- Freitas, V. M., Correa, V. R., Motta, F. C., Sousa, M. G., Gomes, A. C. M. M., Carneiro, M. D. G., et al. (2014). Resistant accessions of wild *Psidium* spp. to *Meloidogyne*

- enterolobii and histological characterization of resistance. *Plant Pathology*, 63, 738-746.
- Gheysen, G., Jones, J., Perry, R., & Moens, M. (2006). Molecular aspects of plant-nematode interactions. *Plant nematology*, 234-254.
- Huang, S. P. (1986). Penetration, development, reproduction, and sex ratio of *Meloidogyne javanica* in three carrot cultivars. *Journal of Nematology*, 18(3), 408-412.
- Hussey, R. S. (1985). Host-parasite relationships and associated physiological changes. In J. N. Sasser & C. C. Carter (Eds.), *An advanced treatise on Meloidogyne*. Biology and control (pp. 143 – 153). Raleigh: North Carolina State University Graphics.
- Hussey, R., & Barker, K. (1973). Comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant disease*, 57, 1025-1028.
- Kimati, H., Amorim, L., Bergamim Filho, A., Camargo, L. E. A., & Rezende, J. A. M. (2005). *Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas*. Piracicaba, SP: Agronômica Ceres.
- López-Gómez, M., & Verdejo-Lucas, S. (2014). Penetration and reproduction of root-knot nematodes on cucurbit species. *European Journal of Plant Pathology*, 138(4), 863-871.
- Mc Clure, M. A., Ellis, K. C., & Nigh, E. L. (1974). Post-infection development and Histopathology of *Meloidoyne incognita* in Resistant Cotton. *Journal of Nematology*, 6(1), 21-26.
- Moon, H. S., Khan, Z., Kim, S. G., Son, S. H., & Kim, Y. H. (2010). Biological and structural mechanisms of disease development and resistance in Chili Pepper infected with the Root-knot nematode. *Plant Pathol. J.*, 26(2), 149-153.
- Niblack, T. L., Hussey, R. S., & Boerma, H. R. (1986). Effects of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita* on Early Growth of Soybean. *Journal of Nematology*, 18(4), 444-450.
- Ogallo, J. L., Goodell, P. B., Eckert, J., & Roberts, P. A. (1997). Evaluation of NemX, a new cultivar of cotton with high resistance to Cotton with high resistance to *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology*, 29(4), 531-537.

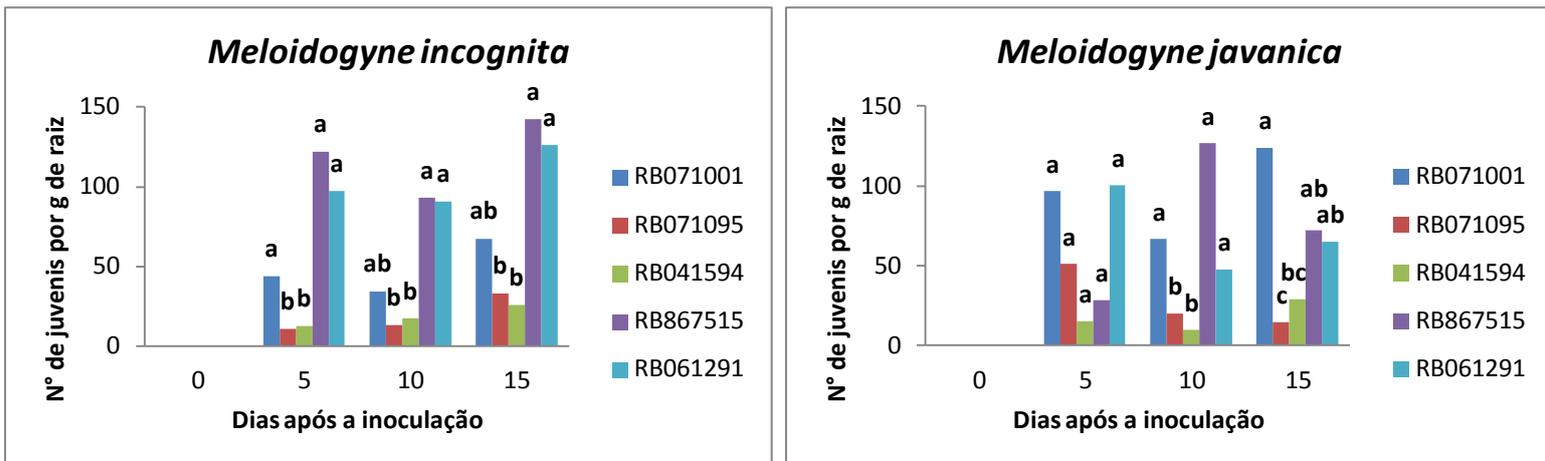
- Opperman, C. H., Bird, D. M., Williamson, V. M., Rokhsar, D. S., Burke, M., Cohn, J., et al. (2008). Sequence and genetic map of *Meloidogyne hapla*: A compact nematode genome for plant parasitism. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(39), 14802-14807.
- Paulson, R. E., & Webster, J. M. (1970). Giant cell formation in tomato roots caused by *Meloidogyne incognita* and *M. hapla* (Nematoda) infection. A light and electron microscope study. *Canadian Journal of Botany*, 48, 271-276.
- Perry, R. N., & Moens, N. (2011). Introduction To Plant-Parasitic Nematodes: Modes Of Parasitism. In: J. Jones, G. Gheysen & C. Fenoll (Eds.), *Genomics and Molecular Genetics of Plant-Nematode Interactions* (pp. 3 – 20). Dordrecht: Springer.
- Pofu, K. M., & Mashela, P. W. (2011). Using relative penetration and maleness indices in *Meloidogyne incognita* to establish resistance type in *Cucumis myriocarpus*. *African Journal of Biotechnology*, 10(3), 390-393.
- Rossi, C. E., & Lima, C. B. (2007). Controle alternativo de nematoides em cultura orgânica de cana-de-açúcar. *Rev. Bras. Agroecologia*, 2(1), 1545-1548.
- Simpson, C. E., & Starr, J. L. (2001). Registration of ‘Coan’ peanut. *Crop Science*, 41, 918.
- Starr, J. L., & Mercer, C. F. (2009). Development of resistant varieties. In R. N. Perry, M. Moens, & J. L. Starr (Eds.), *Root-knot nematodes* (pp. 326-337). Cambridge, MA: CABI International.
- Starr, J. L., Bridge, J., & Cook, R. (2002). Resistance to plant-parasitic nematodes: History, current use and future potential. In J. L. Starr, R. Cook, and J. Bridge (Eds.), *Plant resistance to parasitic nematodes* (pp. 1 – 22). New York: CABI International.
- Thies, J. A., & Fery, R. L. (2003). Response of Bell Pepper Cultivars Near-isogenic for the *N* Gene to *Meloidogyne incognita* in Field Trials. *HortScience*, 38(7), 1394-1396.
- Triantaphyllou, A., & Hirschmann, H. Post infection development of *Meloidogyne incognita* Chitwood 1949 (Nematoda-Heteroderidae). In *Annales de l'Institut Phytopathologique Benaki, 1960* (Vol. 3, pp. 1-11, Vol. 1)
- Walters, S. A., Wehner, T. C., Daykin, M. E., & Barker, K. R. (2006). Penetration rates of root-knot nematodes into *Cucumis sativus* and *C. metuliferus* roots and subsequent histological changes. *Nematropica*, 36(2), 231-242.

Williamson, V. M., & Gleason, C. A. (2003). Plant–nematode interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, 6(4), 327-333.

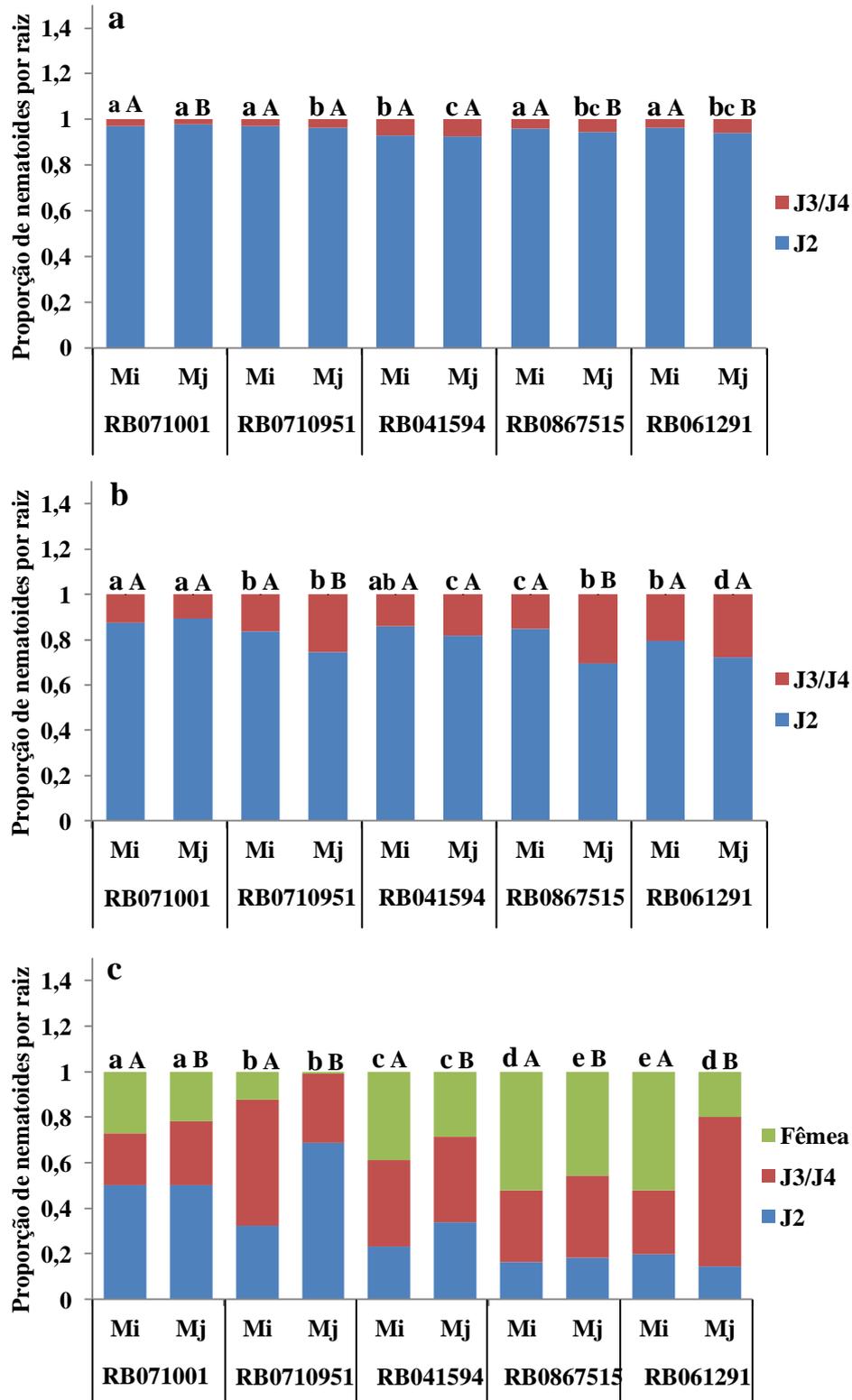
Williamson, V. M., & Hussey, R. S. (1996). Nematode pathogenesis and resistance in plants. *The Plant Cell*, 8, 1735-1745.



**Fig. 1** Número de juvenis de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* aos 5, 10 e 15 dias após a inoculação (DAI) em cinco genótipos de cana-de-açúcar. Os genótipos consistem de quatro clones, RB071001; RB071095; RB041594; RB061291 e a variedade RB867515 (controle suscetível). Foram inoculados 4000 ovos/100cm<sup>3</sup> de solo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferenças significativas a 5% de acordo com o teste de Tukey HSD.



**Fig. 2** Número de juvenis por g de raiz de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* aos 5, 10 e 15 dias após a inoculação (DAI) em cinco genótipos de cana-de-açúcar. Os genótipos consistem de quatro clones, RB071001; RB071095; RB041594; RB061291 e a variedade RB867515 (controle suscetível). Foram inoculados 4000 ovos/100cm<sup>3</sup> de solo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferenças significativas a 5% de acordo com o teste de Tukey HSD.



**Fig. 3** Número de estádios de desenvolvimento de *Meloidogyne incognita* (Mi) e *M. javanica* (Mj) aos 15(a), 20(b) e 40(c) dias após a inoculação (DAI) em cinco genótipos de cana-de-açúcar. Os genótipos consistem de quatro clones, RB071001; RB071095; RB041594; RB061291 e a variedade RB867515 (controle suscetível). Foram inoculados 4000 ovos/100cm<sup>3</sup> de solo. Valores são médias de seis repetições. Colunas que possuem a mesma letra minúscula, não diferem significativamente entre si. Colunas que possuem a mesma letra maiúscula, não diferem significativamente entre si. A letra minúscula representa a

comparação entre a mesma espécie de nematoide nos diferentes genótipos. A letra maiúscula representa a comparação entre as espécies de nematoides dentro do mesmo genótipo.

**Tabela 1** Reprodução de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em cinco genótipos de cana-de-açúcar, aos 60 dias após a inoculação com 4000 ovos/100cm<sup>3</sup> de solo, em casa de vegetação.

<b>Genótipos</b>	<b>Espécie do nematoide</b>	<b>População inicial <sup>a</sup></b>	<b>Número de ovos</b>
<b>RB071001</b>	<i>M. incognita</i>	165 b A	5477 a BC
	<i>M. javanica</i>	415 a A	7011 b BC
<b>RB071095</b>	<i>M. incognita</i>	56 b A	5676 a BC
	<i>M. javanica</i>	167a A	1312 b C
<b>RB041594</b>	<i>M. incognita</i>	67 b A	2399 b BC
	<i>M. javanica</i>	51 b A	10263 a AB
<b>RB867515</b>	<i>M. incognita</i>	384 a A	6830 b BC
	<i>M. javanica</i>	135 b A	17235 a A
<b>RB061291</b>	<i>M. incognita</i>	336 a A	3268 b BC
	<i>M. javanica</i>	311 a A	8344 a BC

Os dados são médias de seis repetições. Os valores dentro dos genótipos, e que possuem a mesma letra maiúscula, não diferem entre si. Os valores dentro do isolado do nematoide, e que possuem a mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si. Médias separadas pelo teste de Tukey HSD a 5%. <sup>a</sup> Número de juvenis que penetraram na raiz aos cinco dias após a inoculação.

## **Capítulo IV**

---

---

### **Conclusões gerais**

## CONCLUSÕES GERAIS

- Todos os genótipos RB de cana-de-açúcar testados foram suscetíveis às espécies *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*, em condições de casa de vegetação. Entretanto o genótipo RB071001 se mostrou tolerante ao ataque das duas espécies de nematoides;
- Os genótipos RB041594 e RB071095 possuem gradiente de resistência expresso pela redução da penetração, do desenvolvimento e da reprodução de *M. incognita* e *M. javanica* respectivamente em relação ao comportamento da variedade RB867515 utilizada como padrão de suscetibilidade;
- Nas condições do experimento em casa de vegetação, o ciclo de *M. incognita* e *M. javanica* parasitando cana-de-açúcar foi superior a 45 dias.