

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade De Agronomia Eliseu Maciel**  
**Programa De Pós-Graduação Em Fitossanidade**



Tese

**Fitonematoides em videira e pessegueiro:** caracterização de espécies de *Mesocriconema* e *Pratylenchus*, reação de porta-enxertos, interação com *Ilyonectria macrodidyma* e primeiro relato de *Meloidogyne morocciensis* em pessegueiro no Brasil

**Wellington Rodrigues da Silva**

Pelotas, 2022

**Wellington Rodrigues da Silva**

**Fitonematoides em videira e pessegueiro:** caracterização de espécies de *Mesocriconema* e *Pratylenchus*, reação de porta-enxertos, interação com *Ilyonectria macrodidyma* e primeiro relato de *Meloidogyne morocciensis* em pessegueiro no Brasil

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área de conhecimento: Fitopatologia).

Orientador: Prof. Dr. Cesar Bauer Gomes

Coorientador: Prof. Dr. Jerônimo Vieira de Araújo Filho

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

S586f Silva, Wellington Rodrigues da

Fitonematoides em videira e pessegueiro : caracterização de espécies de *Mesocriconema* e *Pratylenchus*, reação de porta-enxertos, interação com *Ilyonectria macrodidyma* e primeiro relato de *Meloidogyne morocciensis* em pessegueiro no Brasil / Wellington Rodrigues da Silva ; Cesar Bauer Gomes, orientador ; Jerônimo Vieira de Araújo Filho, coorientador. — Pelotas, 2022.

184 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. *Vitis* spp.. 2. *Prunus* spp.. 3. Nematóide-anelado. 4. Nematóide-das-lesões-radiculares. 5. Pé-preto. I. Gomes, Cesar Bauer, orient. II. Araújo Filho, Jerônimo Vieira de, coorient. III. Título.

CDD : 634.25

Wellington Rodrigues da Silva

**Fitonematoides em videira e pessegueiro:** caracterização de espécies de *Mesocriconema* e *Pratylenchus*, reação de porta-enxertos, interação com *Ilyonectria macrodidyma* e primeiro relato de *Meloidogyne morocciensis* em pessegueiro no Brasil

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências pelo Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 19/05/2022

Banca examinadora:

Dr. Cesar Bauer Gomes (Orientador)

Doutor em Fitopatologia pela Universidade Federal de Viçosa

Dr.<sup>a</sup> Ângela Diniz Campos

Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Danielle Ribeiro de Barros

Doutora em Fitopatologia pela Universidade Federal de Viçosa.

Prof. Dr. Jerônimo Vieira de Araújo Filho

Doutor em Ciências (Fitopatologia) pela Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Marcus André Kurtz Almança

Doutor em Fitotecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

À minha mãe **Silvana**.

À minha avó **Petronilha** (*in memoriam*).

Ao meu pai **Adilson** (*in memoriam*).

**OFEREÇO E DEDICO**

## Agradecimentos

À minha mãe Silvana Aparecida V. da Silva pelo apoio inesgotável nessa jornada. Sou o fruto da tua força, bondade e dignidade, obrigado por ter lutado junto comigo em todos os momentos.

À minha avó, Petronília Molena Venturini (*in memoriam*), que me transmitiu os valores mais importantes como bondade, perdão, honestidade e principalmente paciência. Obrigado por sempre me fazer sentir melhor com suas palavras calmas e sábias e seus abraços amorosos. Sempre será a minha maior saudade.

Ao meu pai Adilson Rodrigues da Silva (*in memoriam*), pela educação, incentivo, apoio e por respeitar minhas escolhas. Onde estiver, sei que estás feliz com realização desse nosso sonho.

Ao meu companheiro Eduardo Machado por sempre me incentivar e me apoiar. Obrigado pelas inúmeras vezes que você me enxergou melhor do que sou.

Aos meus queridos amigos do Laboratório de Nematologia Giliard Correia, Cielo Machaca, Helena Oxley, Jaqueline Schafer, Sabrina Martins e Patricia Grinberg pelo envolvimento com o meu trabalho, pelo incentivo e por me proporcionarem momentos de muita alegria em tempos tão difíceis. A amizade de vocês é uma das minhas maiores conquistas durante o doutorado e levarei para a vida toda.

Aos meus amigos Luciana Domingues, Camila Barcelos, Viviane Tavares, Douglas Posso, Kellen Rodrigues, Fernando Recuero, Arthur Nogueira, Gustavo Tavares, Ísis Prestes, Tiago Rodrigues e demais amigos que não cito aqui, pela sincera amizade e carinho, pois através delas minha jornada se tornou muito mais leve e descontraída.

Ao meu orientador Cesar Gomes pela orientação, confiança, apoio e incentivo em todas as dificuldades encontradas no decorrer do doutorado. Obrigado por ser tão presente com os orientados e por me ensinar os primeiros passos na Nematologia.

Aos professores Jerônimo Vieira de Araújo Filho e Danielle Ribeiro de Barros por suas inestimáveis contribuições em minha formação profissional, na forma de ensinamentos, incentivo e apoio.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia Vegetal Fabiane Porto, Mario Renê e Elsa Klumb pelo auxílio, apoio, desabaços e boas risadas durante o período em que estive no Laboratório.

Às minhas queridas “tias do bar” da Embrapa Clima Temperado, Isabel, Iolanda e Clara, as quais me adotaram durante o doutorado, sempre me esperando com café e bolo. Obrigado pela amizade, pelo carinho e pelas ótimas risadas que compartilhamos.

À equipe do Laboratório de Bioquímica Vegetal pela paciência, contribuições e por estarem sempre dispostos a auxiliar.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo, à Universidade Federal de Pelotas e ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, representada pelos professores que se dedicam ao ensino, buscando qualificação e profissionalismo dos alunos e a Embrapa Clima Temperado por toda infraestrutura e colaboração de funcionários de diversos setores para realização deste trabalho.

## Resumo

SILVA, Wellington Rodrigues. **Fitonematoides em videira e pessegueiro: caracterização de espécies de *Mesocriconema* e *Pratylenchus*, reação de porta-enxertos, interação com *Ilyonectria macrodidyma* e primeiro relato de *Meloidogyne morocciensis* em pessegueiro no Brasil.** 2022. 184f. Tese (Doutorado em Fitossanidade). Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2022.

O declínio e morte da videira (DMV) tem se tornado um entrave à viticultura, causando grande preocupação aos produtores. Em levantamentos nematológicos, foram relatadas populações elevadas do nematoide-anelado (*Mesocriconema xenoplax*) e do nematoide-das-lesões-radiculares (NLR) (*Pratylenchus brachyurus*) associadas ao DMV. O envolvimento destes fitonematoides na predisposição ao DMV ainda precisa ser mais bem estudado. Da mesma forma, algumas espécies do nematoide-das-galhas importantes ao pessegueiro ainda não foram detectadas no Brasil. Diante disso, teve-se por objetivo neste estudo: a) identificar a nematofauna e caracterizar as espécies de *Mesocriconema* e *Pratylenchus* associadas a pomares de videira com sintomas de declínio no Sul do Brasil; b) avaliar a reação de genótipos de videira a *M. xenoplax* e *P. brachyurus* e as possíveis alterações bioquímicas das plantas; d) estudar a interação entre *M. xenoplax*, *P. brachyurus*, *M. macrodidyma* (fungo causador do pé-preto) e diferentes genótipos de videira e; e) relatar a ocorrência de uma nova espécie de *Meloidogyne* parasitando pessegueiro no Brasil. Foram identificadas três espécies de *Mesocriconema* associadas à vinhedos em declínio nos estados de Santa Catarina (SC) e Rio Grande do Sul (RS), entre elas, *M. xenoplax*, *M. curvatum* e *M. rusticum*; e, duas espécies de NLR, *P. brachyurus* e *P. zaeae*, foram associadas a vinhedos com DMV em SC. Os porta-enxertos 548-44, IBCA-125 e VR 043-43 comportaram-se como resistentes e tolerantes a *M. xenoplax*, enquanto que 'Paulsen 1103' e 'Gravesac' como suscetíveis e tolerantes ao referido nematoide. *Mesocriconema xenoplax* afetou negativamente os teores de massa fresca da parte aérea e da raiz, e, alterou os teores de pigmentos fotossintéticos e de carboidratos totais em genótipos suscetíveis. O aumento das atividades das enzimas FAL, CAT, SOD, POD, PPO, APX, SOD e GLU associou-se à reação de resistência e a tolerância dos genótipos estudados. O efeito da interação entre *M. xenoplax* e *I. macrodidyma* potencializou os danos vasculares em genótipos de videira suscetíveis; e, o parasitismo de *M. xenoplax* favoreceu a infecção por *I. macrodidyma* em genótipos suscetíveis. Foram identificados porta-enxertos imunes a *P. brachyurus* (1111-21, 548-44, IBCA-125 e VR 043-43), enquanto outros (Paulsen 1103, Gravesac, IAC 313 Tropical, Salt Creek, Chardonnay e Bordô) comportaram-se como suscetíveis a referida espécie. O parasitismo de *P. brachyurus* afetou negativamente os teores de massa fresca de parte aérea e raiz, alterou os teores de pigmentos fotossintéticos e o balanço de carboidratos totais em genótipos suscetíveis. Houve sinergismo nas interações entre *P. brachyurus*, *I. macrodidyma* e genótipos de videira suscetíveis. O efeito combinado de *P. brachyurus* e *I. macrodidyma* potencializou os danos vasculares em genótipos de videira suscetíveis. A espécie *M. morocciensis* foi registrada pela primeira vez parasitando plantas de pessegueiro no Brasil.

**Palavras-chave:** *Vitis* spp., *Prunus* spp., nematoide-anelado, nematoide-das-lesões-radiculares, pé-preto.



## Abstract

SILVA, Wellington Rodrigues. **Nematode community in grapevine and peach, reaction of *Vitis* spp. Genotypes, interaction with *Ilyonectria macrodidyma* and first report of *Meloidogyne morocciensis* on peach tree in Brazil.** 2022. 184f. Thesis (Doctors in Science). Crop Protection Graduation Program. Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

A problem of complex etiology, Grapevine Decline Disease (GDD), has become a notable obstacle to viticulture, causing great concern to producers. In recent surveys, high populations of ring nematode (*Mesocriconema xenoplax*) and root lesion nematode (*Pratylenchus brachyurus*) associated with GDD have been reported. The involvement of these plant parasitic nematodes in the GDD still needs to be better studied, especially in interaction with other pathogens, such as the fungus *Ilyonectria macrodidyma*, which causes the black foot in grapevines. Thus, the aims of this study were: a) identify the nematode community and to characterize *Mesocriconema* species associated with vineyards with symptoms of GDD in southern Brazil; b) to evaluate the reaction of rootstocks to *M. xenoplax* and *P. brachyurus*; d) to study the interaction among *M. xenoplax*, *P. brachyurus*, *I. macrodidyma* and different grapevine genotypes and e) report the occurrence of a new species of *Meloidogyne* parasitizing peach trees in Brazil. Three species of *Mesocriconema* were identified in the states of Santa Catarina and Rio Grande do Sul, including *M. xenoplax*, *M. curvatum* and *M. rusticum*. However, new protocols for amplification of mtCOI need to be tested for Criconematids. The rootstocks 548-44, IBCA-125 and VR 043-43 were resistant and tolerant to *M. xenoplax*, while the rootstocks Paulsen 1103 and Gravesac were susceptible and tolerant to the nematode. *Mesocriconema xenoplax* affected shoot and root fresh mass, altering photosynthetic pigments and total carbohydrates in susceptible genotypes. The increase in the activities of FAL, CAT, SOD, POD, PPO, APX, SOD and GLU enzymes was associated with the resistance reaction and tolerance of the studied grapevine genotypes. The effect of the interaction between *M. xenoplax* and *I. macrodidyma* potentiated vascular damage in susceptible grapevine genotypes. The parasitism of *M. xenoplax* favored infection by *I. macrodidyma* in susceptible grapevine genotypes. Two species of the root lesion nematode, *P. brachyurus* and *P. zaeae*, were associated with declining vineyards in Santa Catarina state. Rootstocks immune to *P. brachyurus* (1111-21, 548-44, IBCA-125 and VR 043-43) were identified, while other genotypes (Paulsen 1103, Gravesac, IAC 313 Tropical, Salt Creek, Chardonnay and Bordô) were susceptible to that species. *Pratylenchus brachyurus* reduced the fresh mass of shoot and root, altered the levels of photosynthetic pigments and the balance of total carbohydrates in susceptible genotypes. There was synergism in the interactions between *P. brachyurus*, *I. macrodidyma* and susceptible grapevine genotypes. The combined effect of *P. brachyurus* and *I. macrodidyma* potentiated vascular damage in susceptible grapevine genotypes, predisposing plants to GDD. The species *M. morocciensis* was reported for the first time in Brazil parasitizing peach tree plants.

**Key words:** *Vitis* spp., *Prunus* spp. ring nematode, lesion nematode, black foot disease.

## Lista de Figuras

- Figura 1.** *Mesocriconema xenoplax*. A) Vagina sigmoide. B) Região esofagiana. C) e D) Formato da cauda e vulva lobulada. E) Região labial e anelação. ....28
- Figura 2.** *Mesocriconema curvatum*. A) Vagina reta. B) Região esofagiana. C) Cauda arredondada. D) Presença de anastomoses. E) Região labial e anelação.2.....29
- Figura 3.** *Mesocriconema rusticum*. A) Vagina reta. B) Região esofagiana. C) Cauda arredondada. D) Presença de anastomoses. E) Região labial e anelação.....29
- Figura 4.** Biplot obtido a partir de dados morfométricos de populações de *Mesocriconema* submetidas à análise de componentes principais.. ....36
- Figura 5.** Arvore Filogenética calculada a partir de sequências do gene COI .....36
- Figura 6.** Rede de haplótipos gerada a partir de sequências do gene COI.....36
- Figura 7.** Distribuição dos haplótipos nas áreas amostradas.. ....36
- Figura 8.** Teores de carboidratos totais em base seca em genótipos de videira cultivados em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com *M. xenoplax* .....60
- Figura 9.** (A) *Heatmap* da atividade da peroxidase (POD) e (B) polifenoloxidase (PPO) em folhas de videiras inoculadas (+N) e não inoculadas (-N) com *M. xenoplax*.64
- Figura 10.** *Heatmap* da atividade da catalase (CAT) em folhas de videiras cultivadas em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com *M. xenoplax*.....65
- Figura 11.** *Heatmap* da atividade da ascorbato peroxidase (APX) em videiras cultivadas em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com *M. xenoplax*. ....66
- Figura 12.** *Heatmap* da atividade da superóxido dismutase (SOD) em videiras cultivadas em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com *M. xenoplax* .....67
- Figura 13.** *Heatmap* da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) em videiras cultivadas em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com *M. xenoplax* .....68
- Figura 14.** *Heatmap* da atividade da  $\beta$ -1,3 glucanase ( $\beta$ -GLU) em folhas inoculadas (+N) e não inoculadas (-N) com *M. xenoplax*. ....69
- Figura 15.** Área necrótica (A), escurecimento vascular (B), reisolamento de *Ilyonectria macrodidyma* (C) e mortalidade (D) de plantas de videira submetidas a diferentes combinações de infestação com *M. xenoplax* (+N e -N) e inoculação com *I. macrodidyma* (+F e -F) .....85
- Figura 16.** Danos vasculares e recuperação de *I. macrodidyma* em fragmentos .....86
- Figura 17.** Localização e distribuição espacial dos gêneros de fitonematoides, por municípios, em vinhedos da região da Serra Gaúcha, Rio Grande do Sul. .... 103

<b>Figura 18.</b> Localização e distribuição espacial dos gêneros de fitonematoides, por municípios, em vinhedos da região da Rota dos Vinhedos, Santa Catarina.....	104
<b>Figura 19.</b> <i>Pratylenchus brachyurus</i> .....	105
<b>Figura 20.</b> <i>Pratylenchus zaeae</i> .....	105
<b>Figura 21.</b> Biplot de dados morfométricos de populações de <i>Pratylenchus</i> spp.....	108
<b>Figura 22.</b> Teores de carboidratos totais em base seca em genótipos de videira inoculados (+N) e não inoculados (-N) com <i>P. brachyurus</i> , sob condições de casa de vegetação .....	113
<b>Figura 23.</b> Escurecimento vascular (A), área necrótica (B), reisolamento de <i>Ilyonectria macrodidyma</i> (C) e mortalidade (D) de plantas submetidas a diferentes combinações de inoculação com <i>P. brachyurus</i> e <i>I. macrodidyma</i> .....	129
<b>Figura 24.</b> A) Sintomas de clorose e escaldadura em folha de videira. B) Escurecimento vascular em caules de videira. C) Reisolamento de <i>I. macrodidyma</i> . D) Necrose em secções transversais de caules de mudas de videira. ....	129
<b>Figura 25.</b> Raízes de pessegueiro com galhas causadas por <i>Meloidogyne</i> sp. ....	134
<b>Figura 26.</b> A) Fenótipos de esterase (A3) e B) malato desidrogenase (N1) de fêmeas de <i>M. morocciensis</i> . <i>M. javanica</i> (J3) e (A1*) como padrão de referência. ....	137
<b>Figura 27.</b> Padrões perineais de fêmeas adultas de <i>M. morocciensis</i> .....	138
<b>Figura 28.</b> Mudas de pessegueiro “seleção” (A) inoculadas e não inoculadas com <i>M. morocciensis</i> . (B) Galhas (C) Fêmea de <i>M. morocciensis</i> .....	140

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Códigos das amostras coletadas em vinhedos em declínio.....	22
<b>Tabela 2.</b> Características morfológicas para a identificação de espécies de <i>Mesocriconema</i> . .....	23
<b>Tabela 3.</b> Parâmetros para a identificação de espécies de <i>Mesocriconema</i> . .....	24
<b>Tabela 4.</b> Espécies de <i>Mesocriconema</i> coletadas por Powers et al. (2014) e incluídas no estudo filogenético .....	28
<b>Tabela 5.</b> Espécies de <i>Mesocriconema</i> detectadas por meio de caracteres morfológicos e morfométricos e suas respectivas frequências.....	27
<b>Tabela 5.</b> Características morfológicas de espécies de <i>Mesocriconema</i> .....	28
<b>Tabela 6.</b> Mensurações e proporções de fêmeas de <i>M. xenoplax</i> coletadas em vinhedos com sintomas de declínio no Sul do Brasil .....	30
<b>Tabela 9.</b> Espécies de <i>Mesocriconema</i> identificados geneticamente, com seus respectivos códigos dos exemplares sequenciados, espécies, amostra de origem e códigos de acesso ao GenBank. ....	33
<b>Tabela 10.</b> Populações finais (PF) e fatores de reprodução (FR) de <i>M. xenoplax</i> e reação de genótipos de videira ao nematoide. ....	56
<b>Tabela 11.</b> Massa fresca da parte aérea e de raízes de genótipos de videira cultivados em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com <i>M. xenoplax</i> .....	57
<b>Tabela 12.</b> Teores de clorofila total e carotenoides em genótipos de videira cultivados em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com <i>M. xenoplax</i> . ....	58
<b>Tabela 13.</b> Coeficientes de correlação de Pearson para as variáveis analisadas de genótipos de videira cultivados em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com <i>Mesocriconema xenoplax</i> .....	61
<b>Tabela 14.</b> Coeficientes de correlação de Pearson para as variáveis analisadas de quatro genótipos de videira cultivados em solo infestado com <i>Mesocriconema xenoplax</i> .....	62
<b>Tabela 15.</b> Coeficientes de correlação de Pearson para a atividade enzimática e o fator de reprodução de <i>Mesocriconema xenoplax</i> em genótipos de videira .....	70
<b>Tabela 16.</b> População final de nematoides (PF), fator de reprodução (FR) e tipo de reação de genótipos de videira infestados com <i>M. xenoplax</i> (+N) e inoculados (+F) ou não (-F) com <i>I. macrodidyma</i> .....	81

<b>Tabela 17.</b> Massa fresca da parte aérea e raízes, teores de clorofila total e carotenoides em genótipos de videira submetidos a diferentes combinações de inoculação com <i>M. xenoplax</i> (+N e -N) e <i>I. macrodidyma</i> (+F e -F) .....	82
<b>Tabela 18.</b> Parâmetros para a identificação de espécies de <i>Pratylenchus</i> .....	95
<b>Tabela 19.</b> Densidades populacionais de fitonematoides detectados em vinhedos nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. ....	102
<b>Tabela 20.</b> Mensurações e proporções de fêmeas de isolados de <i>Pratylenchus</i> coletadas em vinhedos com sintomas de declínio no em Santa Catarina. ....	106
<b>Tabela 21.</b> População final (solo e raiz), fator de reprodução (FR) e reação de genótipos de videira a <i>P. brachyurus</i> , sob condições de casa de vegetação. ...	110
<b>Tabela 22.</b> Massa fresca da parte aérea e raízes, teores de clorofila total e carotenoides em genótipos de videira inoculados (+N) e não inoculados (-N) com <i>Pratylenchus brachyurus</i> . ....	112
<b>Tabela 23.</b> Coeficientes de correlação de Pearson para as variáveis analisadas de genótipos de videira inoculados (+N) e não-inoculados (-N) com <i>Pratylenchus brachyurus</i> . ....	115
<b>Tabela 24.</b> Coeficientes de correlação de Pearson para as variáveis analisadas de quatro genótipos de videira inoculados com <i>Pratylenchus brachyurus</i> .....	116
<b>Tabela 25.</b> População final de nematoides no solo e raiz (PF), fator de reprodução (FR) e tipo de reação de genótipos de videira inoculados com <i>P. brachyurus</i> (+N) e inoculados (+F) ou não inoculados (-F) com <i>I. macrodidyma</i> . ....	124
<b>Tabela 26.</b> Massa fresca da parte aérea e raízes, teores de clorofila total e carotenoides em genótipos de videira submetidos a diferentes combinações de inoculação com <i>P. brachyurus</i> (+N e -N) e <i>I. macrodidyma</i> (+F e -F).....	125
<b>Tabela 27.</b> Dados morfométricos ( $\mu\text{m}$ ) de juvenis de segundo estágio (J2) obtidos das plantas de pessegueiro do presente estudo e valores descritos por Rammah e Hirschmann (1990). Médias seguidas pelo desvio padrão e intervalo. ....	139
<b>Tabela 28.</b> Massa fresca da parte aérea e raízes e redução de massa em mudas de pessegueiro inoculadas e não inoculadas com <i>M. morocciensis</i> .....	140

## Sumário

<b>1. Introdução Geral</b> .....	15
<b>2. CAPÍTULO I. Espécies de <i>Mesocriconema</i> associadas ao declínio e morte da videira no Sul do Brasil</b> .....	19
2.1. Introdução .....	19
2.2. Material e Métodos.....	21
2.2.2. Caracterização molecular .....	25
2.2.3. Análise Filogenética.....	26
2.3. Resultados e Discussão.....	27
2.4. Conclusões .....	40
<b>3. CAPÍTULO II. Respostas bioquímicas e reação de genótipos de videira parasitados pelo nematoide-anelado (<i>Mesocriconema xenoplax</i>) e interação com <i>Ilyonectria macrodidyma</i></b> .....	41
3.1. Introdução .....	41
3.2. Material e Métodos.....	43
3.2.1. Reação de genótipos de videira a <i>Mesocriconema xenoplax</i> .....	43
3.2.2. Estudo da interação entre <i>Mesocriconema xenoplax</i> e <i>Ilyonectria macrodidyma</i> em genótipos de videira .....	52
3.2.3. Análise estatística.....	55
3.3. Resultados e Discussão.....	55
3.3.1. Reação de genótipos de videira a <i>Mesocriconema xenoplax</i> .....	55
3.3.2. Estudo da interação entre <i>Mesocriconema xenoplax</i> e <i>Ilyonectria macrodidyma</i> em genótipos de videira .....	80
3.4. Conclusões .....	88
<b>4. CAPÍTULO III. Caracterização da nematofauna em vinhedos em declínio no Sul do Brasil, reação de genótipos de <i>Vitis</i> sp. ao nematoide-das-lesões (<i>Pratylenchus brachyurus</i>) e interação com <i>Ilyonectria macrodidyma</i></b> .....	90
4.1. Introdução .....	90
4.2. Material e Métodos.....	92
4.2.1. Coleta, processamento, identificação e quantificação da nematofauna em vinhedos em declínio no Rio Grande do Sul e Santa Catarina .....	93
4.2.2. Caracterização das espécies de <i>Pratylenchus</i> .....	94
4.2.3. Reação de genótipos de videira a <i>Pratylenchus brachyurus</i> .....	96

4.2.4. Estudo da interação entre <i>Pratylenchus brachyurus</i> e <i>Ilyonectria macrodidyma</i> em genótipos de videira .....	98
4.3. Resultados e Discussão.....	101
4.3.1. Nematofauna associada a vinhedos em declínio do RS e SC.....	101
4.3.2. Reação de genótipos de videira a <i>Pratylenchus brachyurus</i> .....	109
4.3.3. Estudo da interação entre <i>Pratylenchus brachyurus</i> e <i>Ilyonectria macrodidyma</i> em genótipos de videira .....	123
4.4. Conclusões .....	131
<b>5. CAPÍTULO IV. Primeiro relato de <i>Meloidogyne morocciensis</i> infectando plantas de pessegueiro no Brasil .....</b>	<b>133</b>
5.1. Introdução .....	133
5.2. Material e Métodos.....	134
5.2.1. Caracterização bioquímica, morfológica e morfométrica .....	135
5.2.2. Teste de patogenicidade .....	136
5.3. Resultados e Discussão.....	137
5.4. Conclusão .....	140
<b>6. Considerações Finais.....</b>	<b>141</b>
<b>7. Referências Bibliográficas.....</b>	<b>142</b>
<b>8. Anexos.....</b>	<b>174</b>

## 1. Introdução Geral

A videira (*Vitis* L.) é uma espécie frutífera originária de regiões de clima temperado e altamente adaptável à climas subtropicais e tropicais, sendo cultivada em quase toda extensão do território brasileiro (MELLO, 2016). O Rio Grande do Sul é o maior produtor nacional de uvas, contribuindo com 90% da produção de uvas finas do país (CONAB, 2020). Segundo dados publicados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2021), na colheita de 2020/2021, foram colhidos 1,69 milhões de toneladas de uva no país, sendo que o RS concentrou 56% da produção, seguido de Pernambuco (23%).

Devido à grande variação de latitude e altitude do Brasil, a cultura da videira encontra-se difundida por todo o país, sendo cultivada entre os paralelos 30°S e 9°S, abrangendo desde o Rio Grande do Sul até Rio Grande do Norte, com considerável diversidade ambiental entre as zonas de produção, incluindo regiões de clima temperado, subtropical e tropical, cada uma com suas características e problemas fitossanitários distintos de cada região (AMORIM; SPÓSITO; KUNIYUKI, 2016).

Entre os principais problemas fitossanitários na cultura da videira, as nematoses merecem destaque devido ao nível de dano que ocasionam. Os principais fitonematoídeos relatados na cultura são o nematoíde-das-galhas (gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1892), o nematoíde-adaga (gênero *Xiphinema* Cobb, 1913), nematoíde-das-lesões-radiculares (gênero *Pratylenchus* Filipjev, 1936), nematoíde-dos-citros (*Tylenchulus semipenetrans* Cobb, 1913), nematoíde-anelado (gênero *Mesocriconema* Andrassy, 1965), nematoíde-reniforme (*Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940), entre outros gêneros como *Longidorus* Micoletzky, 1922, *Paratrichodorus* Siddiqi, 1974 e *Trichodorus* Cobb, 1913 (TELIZ et al., 2007; GOMES; CAMPOS; COSTA, 2009; ZASADA et al., 2012; DIVERS et al., 2019).

Historicamente, os viticultores da região Sul do Brasil enfrentam problemas de mortalidade de videiras, os quais se intensificaram entre as décadas de 1980 e 1990, quando o cultivo apresentou diminuição considerável da área plantada e registros de muitos casos de perdas de vinhedos inteiros (SHUCK et al., 1993; MENEZES-NETTO et al., 2016). A redução da área cultivada e do grande número morte de plantas foi atribuída a síndrome conhecida como declínio e morte da videira (DMV), um problema caracterizado pela morte acentuada de plantas, as quais apresentam sintomas de



clorose internerval, redução de vigor e entrenós curtos. De etiologia complexa, o DMV tem sido associado a fatores bióticos e abióticos e, entre os fatores bióticos está o nematoide-anelado (*Mesocriconema xenoplax* [Raski, 1952] Loof & De Grisse, 1989) e fungos causadores de doenças do troco da videira, como *Ilyonectria macrodidyma* (Halleen, Schroers & Crous) Chaverri & Salgado, *Phaeoconiella chlamydospora* (Gams, Crous, Wingf. & Mugnai) Crous & Gams e espécies de *Phaeoacremonium* Gams, Crous & Wingf. (GARRIDO et al., 2004; GOMES; CAMPOS; COSTA, 2009; CAVALCANTI et al., 2013; DIVERS et al., 2019).

*Mesocriconema xenoplax* é um nematoide cosmopolita, altamente nocivo a diversas culturas, entre elas a videira (PINOCHET; CISNEROS, 1986; WALKER, 1995). Em algumas áreas tradicionais de vinhedos, é registrado como o mais abundante fitoparasita (PINKERTON et al., 1999; GOMES; CAMPOS; COSTA, 2009; MALOSSINI et al., 2011; SCHREINER; ZASADA; PINKERTON, 2012). Este nematoide reduz o crescimento das raízes, a colonização de fungos micorrízicos arbusculares e a produtividade em plantios novos (PINKERTON et al., 2004). Schreiner e Pinkerton (2008) demonstraram que o nematoide-anelado se reproduz rapidamente em porta-enxertos e cultivares copa de videira, reduzindo os teores de carboidratos das raízes em 39%, a colonização arbuscular em 40% e a absorção de fósforo e potássio em 20%.

O parasitismo de *M. xenoplax* em videira provoca o escurecimento local e rápido do sistema radicular, seguido da destruição dos tecidos, resultando no atrofiamento dessas raízes (SANTO; BOLANDER, 1977; KUHN, 2015). Análises de ultraestrutura de tecidos infectados por *M. xenoplax* demonstraram severa destruição dos tecidos nas camadas do córtex radicular (LOWNSBERRY et al., 1978), podendo servir de entrada para outros patógenos. Contudo, o real papel desses fitonematoides no estabelecimento do DMV ainda não está bem esclarecido, necessitando de estudos adicionais com o objetivo de correlacionar esses agentes com a doença.

Os sintomas característicos do DMV em plantas adultas são expressos na forma de clorose internerval nas folhas, similar à deficiência de potássio e magnésio, decorrente de restrições na absorção e transporte de nutrientes. Em seguida as folhas começam a encarquilhar e, em alguns casos, observa-se necrose em suas bordas (BOTTON; COLLETA, 2000; HICKEL; BOTTON; SCHUCK, 2010). Por fim, as plantas afetadas apresentam baixo vigor, entrenós curtos, e frequentemente acabam morrendo (MENEZES-NETTO et al., 2016). Em plantios novos, os sintomas do DMV

são observados no segundo ano, quando a planta é induzida ao estresse e ao enfraquecimento progressivo, devido ao comprometimento do sistema radicular, podendo causar a morte já no terceiro ano, reduzindo o estande de plantas do vinhedo (HICKEL; BOTTON; SCHUCK, 2010; MENEZES-NETTO et al., 2016). Esses sintomas são reflexo da intensa alimentação do nematoide nas raízes, afetando a fisiologia da videira, principalmente pela redução das reservas de carboidratos nas raízes e no tronco, necessárias para suportar os seguintes anos de crescimento e desenvolvimento das plantas, aliados aos demais fatores envolvidos no DMV (SCHREINER; ZASADA; PINKERTON, 2012).

Acredita-se que fungos causadores de doenças do tronco da videira como *I. macrodidyma* (agente causal do pé-preto), *Phaeomoniella chlamydospora* e *Phaeoacremonium* spp. (doença de Petri ou chocolate) também estejam envolvidos no DMV por serem capazes de enfraquecer as plantas, porém ainda são necessários estudos específicos envolvendo interações entre estes patógenos com demais agentes associados ao DMV, principalmente fitonematoides (GARRIDO et al., 2004; CAVALCANTI et al., 2013).

O status taxonômico do gênero *Mesocriconema* é controverso e os taxonomistas ainda não chegaram a um consenso sobre a validade e composição das espécies (CORDERO; ROBBINS; SZALANSKI, 2012). Para a identificação destes nematoides, além das observações morfológicas e das medidas convencionais de morfometria, utilizam-se os valores de R e afins (RB, Rst, RV, Ran, Rex, Rvan), relativos ao número de anéis do corpo e posição de certos órgãos em função destes anéis (MONTEIRO; FERRAZ; INOMOTO, 1995). Entretanto, mesmo fazendo uso destes parâmetros, ainda é difícil a correta identificação de espécies de *Mesocriconema*, devido aos táxons intimamente relacionados, ou seja, as diferenças entre as espécies são tão pequenas que chegam a colocar em questão se alguns indivíduos realmente se trata de outra espécie ou são morfotipos, indivíduos com variações morfológicas pertencentes a uma mesma espécie (CORDERO; ROBBINS; SZALANSKI, 2012; KAUR; TRAKUR; KHAN, 2012).

Devido ao difícil trabalho de identificar morfológica e morfometricamente as espécies, têm se recorrido à biologia molecular, através da análise das diferenças existentes entre as sequências de determinados genes, permitindo o conhecimento do genoma desses indivíduos. Um método que tem sido frequentemente utilizado para comparar a diversidade e identificar espécies de criconematídeos é o DNA barcode,

através da caracterização de uma região de aproximadamente 800 pares de base do gene mitocondrial citocromo oxidase (COI) (POWERS et al., 2014; MUNAWAR et al., 2017; OLSON et al., 2017).

Em relação a reação de genótipos de videira frente aos fitonematoides, há um significativo número de estudos disponíveis, produzidos principalmente no exterior, mais comumente nos Estados Unidos. Entretanto, no Brasil e no exterior, tais estudos priorizam a caracterização da reação a espécies do nematoide-das-galhas (*Meloidogyne* spp.) (ANWAR; McKENRY, 2002; FERRIS; ZHENG; WALKER, 2012; GOMES; SOMAVILLA; QUECINI, 2014; VEGA-CALLO; TAMO-ZEGARRA; BELLÉ, 2021), sendo raros os estudos envolvendo a reação a *M. xenoplax* ou a *Pratylenchus brachyurus*, espécie que também vêm sendo frequentemente associada a vinhedos em declínio (DIVERS et al., 2019; SILVA et al., 2019). Ademais, o impacto destes nematoide no crescimento e produtividade de videiras ainda é pouco compreendido, pois os estudos envolvendo este patossistema não mencionam alterações nos parâmetros de desenvolvimento das plantas, perdas ou as alterações bioquímicas por ele desencadeadas, baseando-se apenas no fator reprodutivo do nematoide (RASKI; RADEWALD, 1958; PINKERTON et al. 1999; SCHREINER; ZASADA; PINKERTON, 2012; FORGE et. al, 2020).

No Brasil, o controle de nematoses na vitivinicultura fundamenta-se no emprego de porta-enxertos resistentes e/ou tolerantes, especialmente aos nematoides-das-galhas (GOMES; SOMAVILLA; QUECINI, 2014), uma vez que não há nematicidas químicos com registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (AGROFIT, 2022) e não se tem informação sobre o nível de controle dos produtos biológicos sobre os nematoides-praga alvos. Diante disso vê-se como necessária a identificação das principais espécies de fitonematoides associadas a vinhedos em declínio, a determinação da reação dos principais genótipos de videira frente a estes fitonematoides e sua interação com o fungo *I. macrodidyma* na predisposição de plantas ao declínio.

## 2. CAPÍTULO I. Espécies de *Mesocriconema* associadas ao declínio e morte da videira no Sul do Brasil

### 2.1. Introdução

O cultivo da videira (*Vitis* spp.) encontra-se difundido por quase todo o território brasileiro, em razão da adaptabilidade da cultura as regiões de clima subtropical e tropical, sendo cultivada entre os paralelos 30°S e 9°S de latitude, abrangendo desde o Rio Grande do Sul até Rio Grande do Norte e com problemas fitossanitários distintos de cada região (SENTELHAS, 1998; TONIETTO; MANDELLI, 2003). No Sul do Brasil, a região da Serra Gaúcha, no Rio Grande do Sul, e o Alto Vale do Rio do Peixe, em Santa Catarina, são consideradas grandes polos do setor vitivinícola do país e, historicamente, enfrentam problemas de mortalidade de plantas, atribuídas a síndrome conhecida como declínio e morte da videira (DMV) (SHUCK et al., 1993; DAMBROS et al., 2016; MENEZES-NETTO et al., 2016).

Entre os problemas fitossanitários que afetam a videira, aqueles incitados por fitonematoides, como destacado por Téliz et. al (2007) e Gomes, Campos e Costa (2009), ocupam posição relevante, devido aos prejuízos para a cultura, principalmente no estabelecimento do pomar, redução do vigor, qualidade dos frutos e mortalidade de plantas, onde as perdas são estimadas entre 12 e 60% (NICOL; van HEESWIJCK, 1997; TELIZ et al., 2007; BOTTON et al., 2020).

Diversas espécies de fitonematoides são onipresentes nas mais variadas regiões vitivinícolas do mundo (NICOL; van HEESWIJCK, 1997; HRYCAN et al., 2020). De modo geral, entre as espécies listadas, estão alguns parasitas tidos como comuns e importantes para os vinhedos, como as espécies de nematoide-das-galhas, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949, *M. ethiopica* Whitehead, 1968, e *M. hapla* Chitwood, 1949, o nematoide-anelado, *Mesocriconema xenoplax* (Raski, 1952) Loof & De Grosse, 1989, o nematoide-adaga, principalmente *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950 e *X. americanum* Cobb, 1913, o nematoide-dos-citros, *Tylenchus semipenetrans* Cobb, 1913, e o nematoide-das-lesões-radiculares, como *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey, 1929) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941 e *P. vulnus* Allen & Jensen, 1951 (PINKERTON et al., 1999;

WALKER; STIRLING, 2008; GOMES; CAMPOS; COSTA, 2009; ASKARY et al., 2018; DIVERS et al., 2019).

O gênero *Mesocriconema* Andrassy, 1965, é composto por nematoides ectoparasitas, polípagos, cosmopolitas e nocivos a diversas culturas, entre elas a videira (WALKER, 1995; PINKERTON et al., 2004). Entre as mais de 100 espécies descritas dentro deste gênero (BRZESKI; LOOF; CHOI, 2002), *M. xenoplax* tem sido frequentemente relatada em vinhedos onde as plantas apresentam sintomas de declínio (PINKERTON et al., 1999; GOMES; CAMPOS; COSTA, 2009; DIVERS et al., 2019). Recentemente, Divers (2018) relatou a presença de um complexo de espécies parasitando videiras com sintomas de DMV, incluindo *M. curvatum* (Raski, 1952) Loof & De Grisse, 1989, *M. rusticum* (Micoletzky, 1915) Loof & De Grisse, 1989, *M. sphaerocephala* (Taylor, 1936) Loof, 1989, e mais quatro espécies com identificação inconclusiva. Entretanto, o estudo foi realizado com base em um conjunto comparativamente pequeno de caracteres morfométricos e alométricos e ausência de análise molecular.

O status taxonômico do gênero *Mesocriconema* é controverso e muitos taxonomistas ainda não chegaram a um consenso sobre a validade e composição das espécies, observando-se discrepâncias entre autores quanto ao posicionamento e aceitação da validade das espécies (CORDERO; ROBBINS; SZALANSKI, 2012; POWERS et al., 2017). Além disso, a descrição de novas espécies do gênero *Mesocriconema* foi, por muito tempo, baseada em caracteres morfológicos e morfométricos, analisados, principalmente, por microscopia de luz. No entanto, por apresentarem características, muitas vezes, pouco distintas, alguns morfotipos são incorretamente identificados.

Para a identificação de criconematídeos, além das observações morfológicas e das medidas convencionais de morfometria, utilizam-se os valores de R e afins (RB, Rst, RV, Ran, Rex, Roes, Rvan), relativos ao número de anéis do corpo e posição de certos órgãos em função destes anéis (DE GRISSE, 1969; BRZESKI; LOOF; CHOI, 2002). Entretanto, mesmo fazendo uso destes parâmetros, ainda é difícil a correta identificação de espécies de *Mesocriconema*, devido aos táxons intimamente relacionados, ou seja, as diferenças entre as espécies são tão pequenas que chegam a colocar em questão se alguns indivíduos realmente se trata de outra espécie ou são morfotipos, indivíduos com variações morfológicas pertencentes a uma mesma espécie (CORDERO; ROBBINS; SZALANSKI, 2012).

Utilizados em estudos de diversidade de fitonematóides, principalmente em criconematóides, os marcadores de DNA mitocondrial, como o gene citocromo oxidase subunidade I (COI), são conhecidos por fornecer uma resolução mais fina da diversidade de linhagens do que os 18S, tornando-se útil em estudos de caracterização de espécies crípticas, filogeografia e filogenia (TANG et al. 2012; POWERS et al., 2014; OLSON et al., 2017). Em uma breve consulta a base de dados do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), observa-se que, atualmente, o grande número de informações disponíveis sobre o gênero *Mesocriconema* e afins (*Criconemoides* Taylor 1936, *Hemicriconemoides* Chitwood & Birchfield, 1957, *Discocriconemella* De Grisse & Loof, 1965 e *Nothocriconemoides* [Maas, Loof & De Grisse, 197]) são provenientes da região COI.

Diante da incontestável dificuldade de identificação de espécies de *Mesocriconema*, sugerida pelas análises morfológicas, morfométricas e alométricas, admite-se a execução de estudos comparativos entre as espécies. Assim, diante importância que esse grupo de nematóides representa para a vitivinicultura, reunir informações moleculares quanto a caracterização e identificação das espécies envolvidas no DMV torna-se importante para conhecer e traçar futuras estratégias visando o manejo da doença. Em vista do exposto, no presente estudo, teve-se por objetivo identificar e caracterizar o complexo de espécies de *Mesocriconema* associados a pomares de videira em declínio no Sul do Brasil, através de uma abordagem integrativa.

## 2.2. Material e Métodos

O estudo descrito a seguir foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Clima Temperado, em parceria com o Laboratório de Virologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas. Populações de *Mesocriconema* spp. coletadas por Divers (2018) em vinhedos com sintomas de declínio no Rio Grande do Sul e Santa Catarina foram mantidas em plantas de pessegueiro e utilizadas neste estudo para identificação das espécies (Tabela 1). Em um primeiro momento, quinze populações foram analisadas morfológica e morfometricamente. Para determinação das espécies foi considerado o Conceito Unificado de Espécies, reformulado por Queiroz (2005).

**Tabela 1.** Códigos das amostras coletadas em vinhedos com sintomas de declínio, com seus respectivos porta-enxertos, coordenadas geográficas e município/estado.

<b>Código da amostra</b>	<b>Porta-enxerto</b>	<b>Coordenadas geográficas</b>	<b>Cidade/Estado</b>	<b>Coletor</b>
Mayer	Capdeboscq <sup>1/</sup>	Não identificado	Pelotas/RS	Não informado
1	Paulsen 1103	27°2'0,23" S 51°8'6,008" W	Videira/SC	Divers (2018)
2	Paulsen 1103	27°2'0,23" S 51°8'5,045" W	Videira/SC	Divers (2018)
7	VR043-43	27°2'023" S 51°8'6,008" W	Pinheiro Preto/SC	Divers (2018)
8	Pé franco	27°3'20,29" S 51°14'2,593" W	Pinheiro Preto/SC	Divers (2018)
9	Pé franco	27°2'22,81" S 51°15'4,064" W	Pinheiro Preto/SC	Divers (2018)
10	Paulsen 1103	Não identificado	Tangará/SC	Divers (2018)
11	Paulsen 1103	Não identificado	Tangará/SC	Divers (2018)
12	Paulsen 1103	Não identificado	Tangará/SC	Divers (2018)
367	Paulsen 1103	29°14'923" S 51°14'376" W	Caxias do Sul/RS	Divers (2018)
369	Pé franco	29°14'477" S 51°14'363" W	Caxias do Sul/RS	Divers (2018)
376	Paulsen 1103	29°12'102" S 51°33'16" W	Garibaldi/RS	Divers (2018)
378	Paulsen 1103	29°12'64" S 51°33'64" W	Garibaldi/RS	Divers (2018)
380	Não identificado	29°14'811" S 51°38'334" W	Garibaldi/RS	Divers (2018)
422	Paulsen 1103	29°04'505" S 51°14'246" W	Flores da Cunha/RS	Divers (2018)

<sup>1/</sup>Porta-enxerto de pessegueiro.

### 2.2.1. Caracterização morfológica, morfométrica e alométrica

Isolados do nematoide-anelado, obtido das coletas em pomares de videira com sintomas de declínio, e um isolado proveniente de pomar de pessegueiro com sintomas de morte precoce em Pelotas/RS, foram utilizados para montagens temporárias em lâminas de vidro.

As montagens temporárias foram preparadas conforme técnica descrita por Tihohod (1993). Após a identificação das lâminas, os espécimes foram examinados e documentados em um sistema de aquisição de imagens, que consistiu em uma câmera de vídeo (Leica DFC 295) acoplada ao microscópio óptico (Leica DM 1000), nas objetivas de 20X e 40X e na objetiva de imersão de 100X, e a um microcomputador, utilizando o software LAS Core, versão 3.7 para as fotomicrografias.

A partir de 15 fêmeas adultas de cada isolado de *Mesocriconema* foram obtidas imagens de corpo inteiro e de detalhes dos anéis, estilete, esôfago, vulva, cauda, e outros, permitindo a avaliação de quatro caracteres morfológicos e a determinação de 27 variáveis morfométricas e alométricas, listadas nas Tabelas 2 e 3:

**Tabela 2.** Características morfológicas utilizadas para a identificação de espécies de *Mesocriconema*.

Parte do corpo	Variações morfológicas observadas
Cauda	Cônica, arredondada, truncada e cônica aguda
Anéis	Margens suaves, irregulares ou crenadas
Vulva	Lábio anterior da vulva reto ou em lóbulos
Vagina	Vagina em formato reto ou sigmoide

Os dados morfométricos foram submetidos a análise de componentes principais (ACP), utilizando-se para este fim uma matriz de correlação. Primeiramente, uma ACP foi efetuada para selecionar o número de componentes principais (CP) capazes de reter a maior variância. Em seguida, uma segunda ACP foi realizada para obter os agrupamentos. As análises foram realizadas utilizando os pacotes FactoMineR (HUSSON et al., 2017) e factoextra (KASSAMBARA; MUNDT, 2020), disponíveis no software R Studio (versão 4.0) (R Development Core Team 2022).



**Tabela 3.** Parâmetros para a identificação de espécies de *Mesocriconema*.

<b>Medidas em <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Medida</b>
L	Comprimento total do corpo
St	Comprimento do estilete
$\emptyset$	Maior largura do corpo
Oes	Comprimento do esôfago
T	Comprimento da cauda
L'	Distância do extremo anterior ao ânus
V	Distância do extremo anterior à vulva
VL	Distância do extremo posterior à vulva
VA	Distância da vulva ao ânus
VB	Diâmetro do corpo ao nível da vulva
RB	Largura de um anel do corpo
<b>Número de anéis</b>	
R	Número de anéis do corpo
RA	Número de anastomoses nos anéis
RSt	Nº de anéis extremo anterior à base do bulbo do estilete
RV	Número de anéis entre a vulva e o extremo posterior
Ran	Número de anéis entre o ânus e o extremo posterior
Rvan	Número de anéis entre a vulva e o ânus
Roes	Número de anéis na região esofagiana
Rex	Nº de anéis entre extr. ant. e 1º anel após o poro excretor
<b>Índices</b>	
a	Comprimento do corpo / maior largura do corpo
b	Comprimento do corpo / comprimento do esôfago
c	Comprimento do corpo / comprimento da cauda
d	Comprimento da cauda/ VL
<b>Porcentagem</b>	
V%	Distância do extremo anterior à vulva x 100/ L
V'	Distância do extremo anterior à vulva x 100 L'
St%L	Comprimento do estilete x 100/L
St%Oes	Comprimento do estilete x 100/Comprimento do esôfago

## 2.2.2. Caracterização molecular

Para esta etapa, foram testados dois protocolos antes da amplificação dos espécimes. No primeiro, descrito por Powers et al. (2014), uma fêmea de cada isolado *Mesocriconema*, foi removida da lâmina temporária, transferida para lamínula com 18µL de água estéril e rompida com a ponta de uma ponteira de micropipeta. Em seguida, cada espécime foi macerado e transferido para microtubo de (0,2mL). No segundo protocolo, proposto por Subbotin et al. (2005), o nematoide macerado e em microtubo (0,2mL) foi submetido a um pré-tratamento que consistiu na adição de 2,0µL de tampão de PCR 10X, 2,0µL de proteinase K, seguido de duas incubações, uma a 65°C por 60 min e outra a 95°C por 15 min. As condições da PCR, descritas a seguir, foram as mesmas para os dois protocolos de pré-tratamento das amostras.

Por fornecer uma resolução mais fina da diversidade, foi realizada amplificação de fragmentos do gene mitocondrial COI, utilizando os primers (iniciadores) COI- F5 (5'-AATWTWGGTGTGGAACTTCTTGAAC-3') e COI-R9 (5'-CTTAAACATAATGAAAATGGCAACATATAGTC-3'), descritos por Powers et al. (2014) e que resultam em fragmentos de aproximadamente 790pb. As reações de amplificação foram conduzidas em termociclador BioRad T100, em um volume final de 30µL, composto por 9µL da amostra com nematoide macerado, 2,4µL de cada primer a 20µM, para uma concentração final de 1,6µM; 15µL de GoTaq® Green Master Mix 2X (Promega), para uma concentração final da enzima de 0.03U/µL; e 1,2µL de água deionizada esterilizada livre de nucleases. As condições para amplificação incluíram uma desnaturação inicial de 5 minutos a 94°C, seguido por 50 ciclos de 94°C por 30 segundos, 48°C por 30 segundos para a fase de anelamento, 1,5 minutos a 72°C para extensão, com variação de 0,5°C/segundo e uma extensão final de 5 minutos a 72°C.

O produto amplificado foi submetido à eletroforese em gel de agarose a 1% em tampão TBE 0,5X a 100V/cm, utilizando 10µL de reação. Em seguida, os fragmentos foram purificados utilizando o reagente de limpeza de produtos de PCR ExoSAP-IT™ (Thermo Fisher Scientific), seguindo o protocolo do produto. Os fragmentos obtidos foram encaminhados para sequenciamento das bases nucleotídicas e as sequências de DNA editadas e depositadas no GenBank.

### 2.2.3. Análise Filogenética

As sequências de nucleotídeos foram comparadas pelo algoritmo *Blastn*, disponível online (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>), e depositadas no GenBank, gerando um código de acesso para cada sequência (Tabela 4). As sequências foram alinhadas com Clustal W, disponível no software MEGA X (KUMAR et al. 2018), usando valores de parâmetro padrão. A árvore filogenética foi construída pela análise de Neighbor-Joining (modelo definido de acordo com o alinhamento) com a opção de exclusão por pares de intervalos, utilizando o software Geneious v.2022.1. (GENEIOUS, 2022). A árvore foi desenhada com comprimentos de ramos medidos no número de substituições por local. O teste de ramificação interior foi realizado com 1.000 repetições de bootstrap para avaliar a estabilidade relativa das ramificações. Outras sequências de *Mesocriconema* foram selecionadas da pesquisa Blastn (com identidade  $\geq 97$ ) e incluídas na análise (Tabela 4). *Discocriconemella limitanea* (KU552168) foi usado como outgroup. As medidas de distinção dos grupos de haplótipos foram avaliadas utilizando o software Arlequin v. 3.5.2.2 (EXCOFFIER, 2010).

**Tabela 4.** Espécies de *Mesocriconema* coletadas por Powers et al. (2014) e incluídas no estudo filogenético. *Discocriconemella limitanea* foi utilizada como outgroup.

Espécie/isolado	Código	Espécie/isolado	Código
<i>M. curvatum</i> 122	KJ787843	<i>M. sphaerocephalum</i> 1454	KU236638
<i>M. curvatum</i> TN11	MN734383	<i>M. sphaerocephalum</i> N3199	MN711166
<i>M. discus</i> 431	KJ787866	<i>M. sphaerocephalum</i> N5926	MN711168
<i>M. discus</i> 444	KJ787869	<i>M. sphaerocephalum</i> N5928	MN711170
<i>M. discus</i> N3670	KY574622	<i>M. sphaerocephalum</i> N7127	MN711173
<i>M. ornatum</i> N6893	MN711100	<i>M. xenoplax</i> N2893	MN711196
<i>M. ornatum</i> N2716	MN711099	<i>M. xenoplax</i> N5712	MN711217
<i>M. rusticum</i> N3235	MN711105	<i>M. xenoplax</i> N7175	MN711231
<i>M. rusticum</i> 691	KJ787854	<i>M. xenoplax</i> N9103	MN711236
<i>M. rusticum</i> 99	KJ787852	<i>M. xenoplax</i> N2844	MN711187
<i>M. rusticum</i> 742	KJ787855	<i>D. limitanea</i> P184026	MN710980

### 2.3. Resultados e Discussão

Foram identificadas três espécies de *Mesocriconema*, a saber: *M. xenoplax*, *M. curvatum* e *M. rusticum* (Tabela 5). Presente em todas as amostras, *M. xenoplax* predominou como a espécie mais frequente, sendo exceção apenas para a amostra 7, com 40,0% frequência, cuja frequência de *M. curvatum* foi predominante (46,7%). Esta última espécie foi detectada em oito amostras, seguida por *M. rusticum* que foi detectada em quatro amostras. Entre as amostras provenientes de pomares de videira de Santa Catarina, apenas na amostra 8 não foi observada mistura de espécies, sendo exclusivamente composta pela espécie *M. xenoplax*. Da mesma forma, entre as amostras do Rio Grande do Sul, apenas a amostra 367 mostrou-se homogênea, composta pela mesma espécie em questão. Na amostra Mayer, proveniente de pomar de pessegueiro, também foi observado apenas a espécie *M. xenoplax*.

**Tabela 5.** Espécies de *Mesocriconema* detectadas por meio de caracteres morfológicos e morfométricos e suas respectivas frequências.

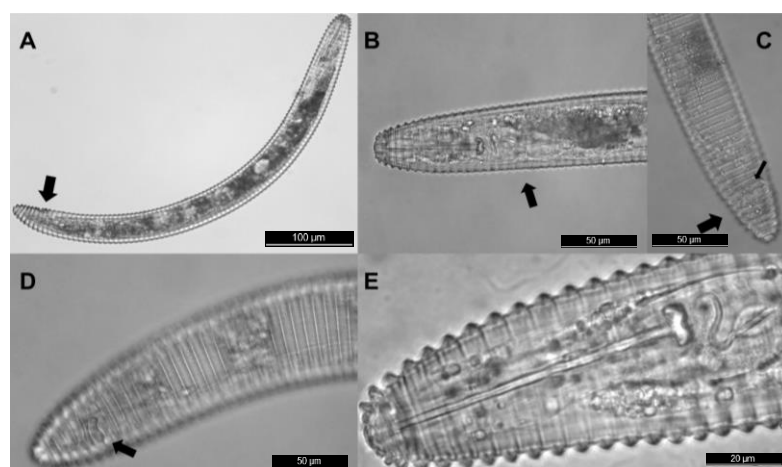
Amostra	Espécie	Freq. (%) <sup>2</sup>	Amostra	Espécie	Freq. (%)
Mayer <sup>1</sup>	<i>M. xenoplax</i>	100,0		<i>M. xenoplax</i>	66,7
	<i>M. xenoplax</i>	80,0	12	<i>M. rusticum</i>	33,3
2	<i>M. rusticum</i>	20,0	367	<i>M. xenoplax</i>	100,0
	<i>M. xenoplax</i>	40,0	369	<i>M. xenoplax</i>	80,0
7	<i>M. curvatum</i>	46,7		<i>M. rusticum</i>	20,0
	<i>M. rusticum</i>	13,3	376	<i>M. xenoplax</i>	73,3
8	<i>M. xenoplax</i>	100,0		<i>M. curvatum</i>	26,7
	<i>M. xenoplax</i>	73,3	378	<i>M. xenoplax</i>	66,7
9	<i>M. curvatum</i>	26,7		<i>M. curvatum</i>	33,3
	<i>M. xenoplax</i>	73,3	380	<i>M. xenoplax</i>	60,0
10	<i>M. curvatum</i>	26,7		<i>M. rusticum</i>	40,0
	<i>M. xenoplax</i>	60,0	422	<i>M. xenoplax</i>	73,3
11	<i>M. curvatum</i>	40,0		<i>M. curvatum</i>	26,7

<sup>1</sup>Amostra proveniente de pomar de pessegueiro. <sup>2</sup>Frequência de detecção.

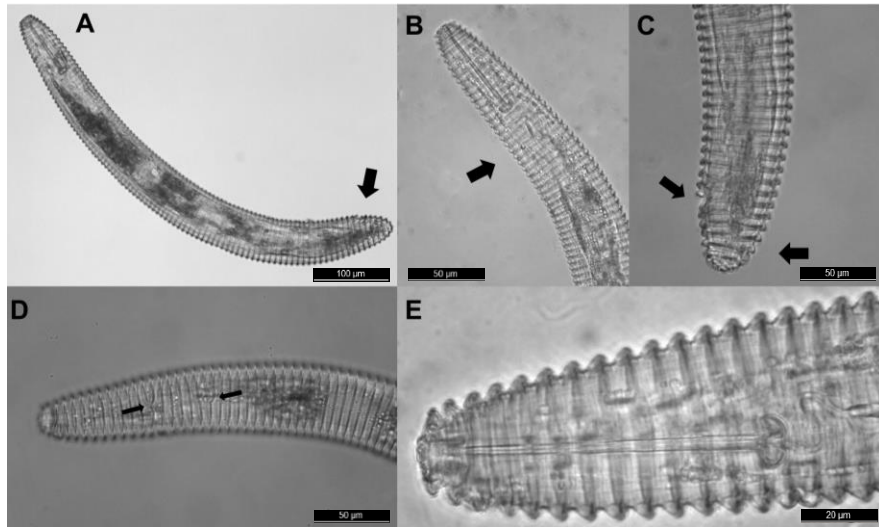
Os dados referentes às caracterizações morfológicas, morfométricas e alométricas estão expostos nas tabelas 6 e 7, para as três espécies detectadas. Em relação à morfologia (Figuras 1, 2 e 3), *M. xenoplax* diferiu de *M. curvatum* e *M. rusticum* principalmente pelo formato da vulva, o qual em *M. xenoplax* observa-se uma leve curvatura, caracterizando-a como sigmoide. A presença de lóbulos na vulva foi uma das características de maior dificuldade de observação durante as análises, pois é uma característica que para ser visualizada é preciso que a fêmea esteja com o lado ventral voltado para cima. Por outro lado, apesar da facilidade de observar a anelação dos exemplares, sua classificação é de grande dificuldade, visto as diferenças sutis entre anulações irregulares e suaves, da mesma forma que a classificação do formato da cauda. Uma característica marcante e de grande utilidade para separar *M. xenoplax* das demais espécies foi a ausência de anastomoses nos anéis, visto que esta espécie não apresenta anastomoses ao longo das anelações.

**Tabela 6.** Características morfológicas observadas nas espécies de *Mesocriconema*.

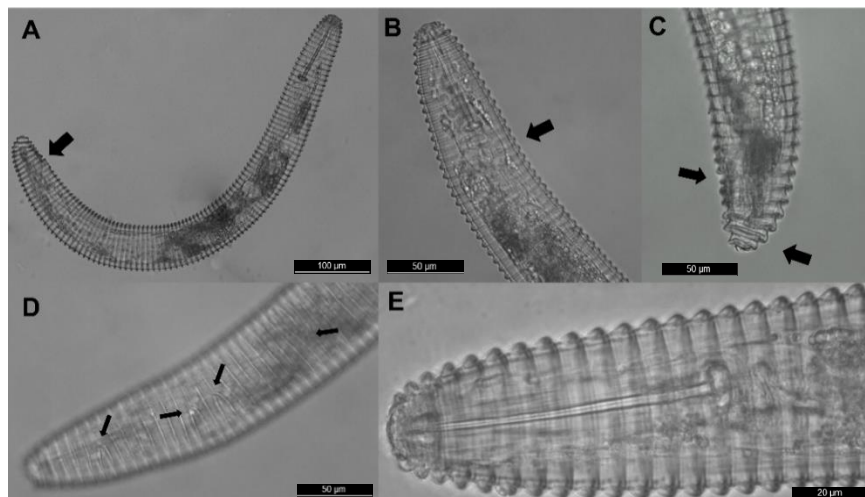
Espécie	Cauda	Anéis	Vulva	Vagina	Anastomose
<i>M. xenoplax</i>	Cônica a Arredondada	Irregular a Suave	Lóbulos	Sigmoide	Ausente
<i>M. curvatum</i>	Arredondada	Suave	Lóbulos	Reta	Presente
<i>M. rusticum</i>	Arredondada	Suave	Simples	Reta	Presente



**Figura 1.** *Mesocriconema xenoplax*. A) Vagina sigmoide. B) Região esofagiana. C) e D) Formato da cauda e vulva lobulada. E) Região labial e anelação. Barras de escala: 20µm, 50 µm e 100µm.



**Figura 2.** *Mesocriconema curvatum*. A) Vagina reta. B) Região esofagiana. C) Cauda arredondada. D) Presença de anastomoses. E) Região labial e anelação. Barras de escala: 20µm, 50 µm e 100µm.



**Figura 3.** *Mesocriconema rusticum*. A) Vagina reta. B) Região esofagiana. C) Cauda arredondada. D) Presença de anastomoses. E) Região labial e anelação. Barras de escala: 20µm, 50 µm e 100µm.

Quanto à morfometria e alometria, as variáveis em análise tiveram seus valores médios dentro na faixa relatada, para ambas as espécies, de acordo com as descrições originais e estudos adicionais (RASKI, 1952; BRZESKI; LOOF; CHOI, 2002; CORDERO; ROBBINS; SZALANSKI, 2012; POWERS et al., 2014).

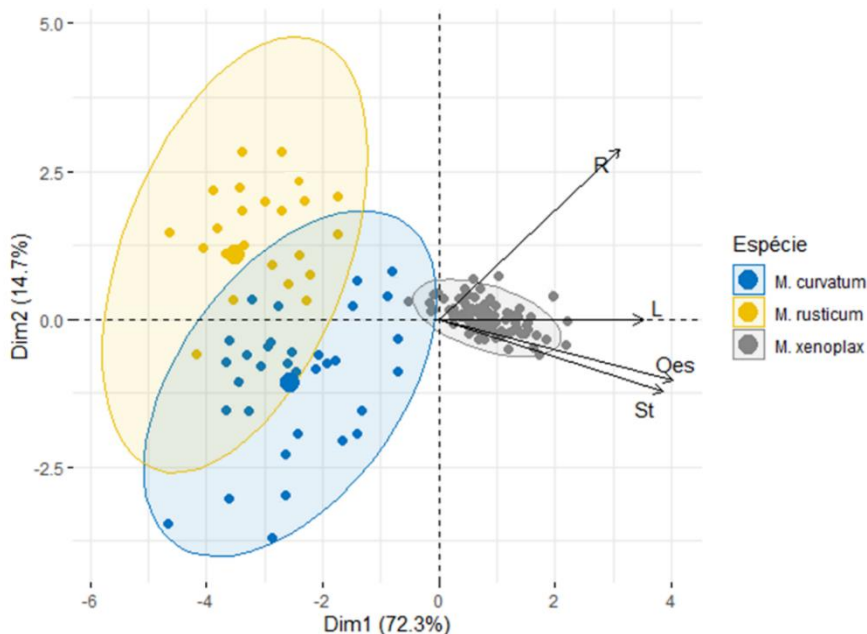
Foi possível observar diferenças significativas e essenciais para identificação das espécies, por exemplo, as variáveis L, St, Oes, t e R foram de grande importância para separação entre *M. xenoplax* e as demais espécies. Além disso, por meio da

**Tabela 7.** Mensurações e proporções de fêmeas de três espécies de *Mesocriconema* coletadas em vinhedos com sintomas de declínio no Sul do Brasil

Medidas	Média (Máximo-Mínimo)		
	<i>M. xenoplax</i>	<i>M. curvatum</i>	<i>M. rusticum</i>
L	655,9 (754,6-565,3)	576,4 (589,2-502,0)	534,0 (539,5-507,6)
St	80,7 (86,5-71,3)	68,9 (72,7-64,8)	57,1 (60,5-49,0)
Ø	59,3 (68,6-52,3)	43,6 (48,5-44,7)	44,0 (44,6-40,5)
Oes	154,9 (173,8-135,8)	124,6 (125,0-120,6)	108,6 (107,2-99,4)
t	29,8 (37,3-22,1)	27,4 (28,6-23,2)	22,8 (23,4-22,1)
L'	627,0 (718,4-550,6)	509,0 (522,0-477,5)	521,3 (514,6-482,2)
V	613,4 (706,3-535,2)	499,2 (512,3-468,6)	493,1 (505,1-475,0)
VL	40,1 (48,0-30,2)	37,2 (38,2-31,5)	31,2 (33,7-32,0)
VA	12,4 (14,3-10,9)	7,6 (7,8-5,4)	6,1 (6,1-5,7)
VB	42,1 (47,8-36,6)	40,7 (42,2-34,9)	36,7 (38,7-30,1)
RB	6,2 (7,1-5,5)	6,1 (6,8-5,4)	6,5 (6,5-5,6)
<b>Nº anéis</b>	-	-	-
R	101,4 (110,0-96,0)	97,5 (98,0-84,0)	99,4 (109,0-94,0)
RSt	14,3 (16,0-11,0)	14,1 (15,0-12,0)	13,2 (15,0-10,0)
RV	7,7 (9,0-7,0)	6,5 (7,0-5,0)	6,3 (8,0-6,0)
Ran	5,5 (6,0-5,0)	4,0 (7,0-4,0)	5,1 (6,0-5,0)
Rvan	2,0 (2,0-2,0)	1,3 (2,0-1,0)	1,2 (2,0-1,0)
Roes	24,3 (25,0-23,0)	25,5 (26,0-22,0)	23,8 (26,0-18,0)
Rex	28,6 (30,0-27,0)	29,6 (31,0-28,0)	29,1 (30,0-26,0)
RA	0,0 (0,0-0,0)	5,0 (7,0-3,0)	5,0 (7-2)
<b>Índices</b>	-	-	-
a	11,1 (12,1-9,4)	10,8 (12,0-9,2)	11,7 (13,3-9,9)
b	4,2 (4,8-3,6)	3,8 (4,0-3,6)	4,0 (4,6-3,5)
c	22,3 (25,6-18,9)	21,2 (32,0-17,0)	23,8 (30,8-18,9)
d	0,7 (1,0-0,6)	0,8 (0,9-0,5)	0,7 (0,8-0,6)
<b>Porcentagem</b>	-	-	-
V%	93,5 (96,3-90,6)	93,5 (95,0-92,4)	93,9 (95,6-92,3)
V'	97,8 (98,6-96,6)	98,2 (98,8-97,4)	98,1 (98,8-96,9)
St%L	12,4 (14,2-10,5)	13,7 (11,4-10,7)	12,8 (16,0-10,1)
St%Oes	52,1 (55,2-47,3)	51,7 (53,0-48,4)	51,1 (56,7-46,4)

análise de PCA (Figura 4) foi possível confirmar a importância desses caracteres para a identificação destas três espécies. Na análise em questão, as espécies se agruparam em três grupos distintos, ainda que observada sobreposição de indivíduos em dois grupos ao mesmo tempo.

A porcentagem da variância explicada pelos dois primeiros componentes principais (CP), gerados a partir de medidas de fêmeas das duas espécies, foi 87%. O primeiro componente principal (PC1) foi positivo para quatro variáveis (St, Oes, L e R) enquanto PC2 foi positivo para R e L. Para *M. xenoplax*, foi verificada baixa variabilidade intraespecífica, enquanto maior variabilidade foi observada entre as espécies *M. curvatum* e *M. rusticum*.



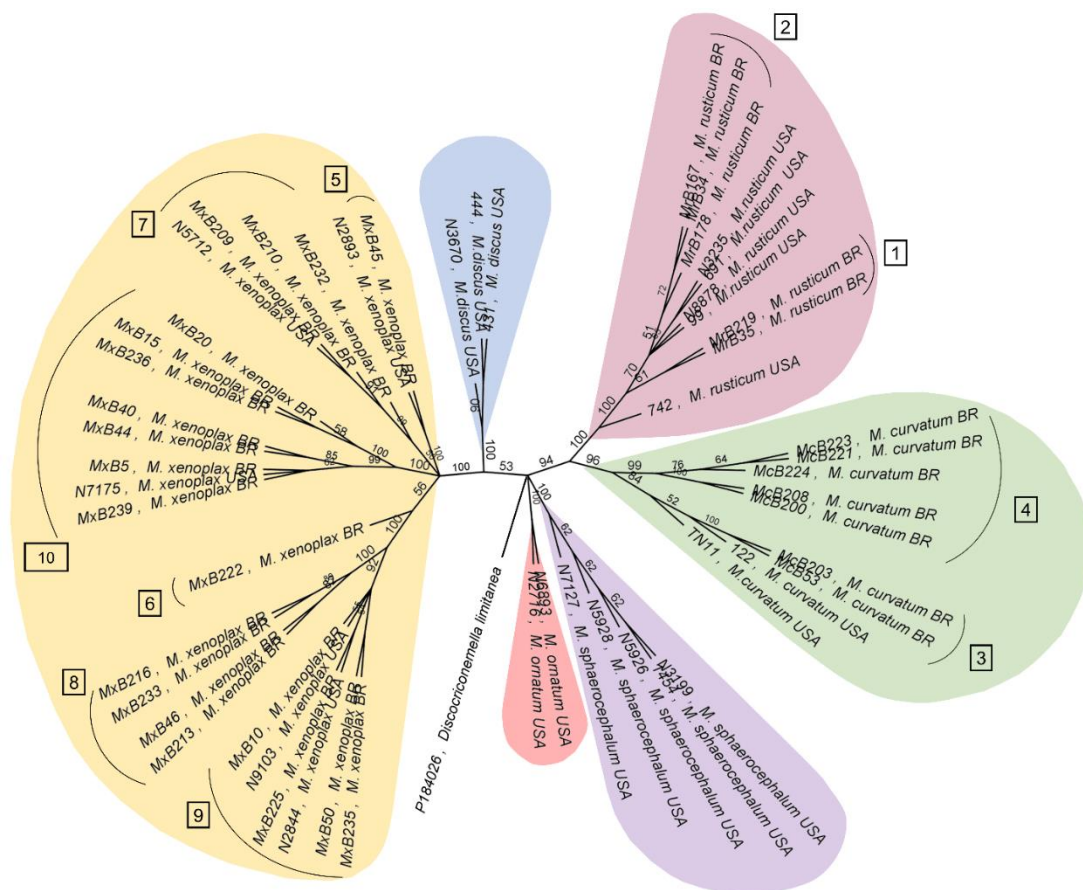
**Figura 4.** Biplot obtido a partir de dados morfométricos de populações de *Mesocriconea* submetidas à Análise de Componentes Principais (ACP). L (comprimento do corpo), St (comprimento do estilete), Oes (comprimento do esôfago) e R (número de anéis do corpo). Outros espécimes utilizados na análise foram extraídos de Cordero et al. (2012).

Em relação à análise molecular, apenas o protocolo de Powers et al. (2014) resultou em amplificação de fragmentos do gene COI. Nenhum fragmento foi obtido a partir do protocolo de Subbotin et al. (2005). Além disso, a eficiência do protocolo foi extremamente baixa (20%). Apenas 32 exemplares, provenientes de oito populações, tiveram seus fragmentos amplificados e sequenciados (Tabela 8). Seis populações de



Santa Catarina e duas do Rio Grande do Sul tiveram indivíduos sequenciados. Os produtos gerados pela reação de PCR resultaram em fragmentos de 721 pares de base (pb), utilizados para formação da árvore filogenética (Figura 5).

Apesar da baixa eficiência do protocolo e do reduzido número de exemplares sequenciados, a análise das sequências do gene COI corroborou a identificação, *a priori*, pois as espécies identificadas corresponderam à identificação morfológica e morfométrica. As sequências de *M. xenoplax* apresentaram 99,7% de similaridade com o indivíduo N9103 (MN711236), assim como as sequências de *M. curvatum* e *M. rusticum* apresentaram 99,8 e 99,7% de similaridade com os indivíduos TN11 (MN734383) e N8878 (MN711111), respectivamente.



**Figura 5.** Árvore filogenética calculada a partir do alinhamento de sequências do gene COI usando o método Neighbor-Joining. Valores de bootstrap >50% (1.000 repetições) são fornecidos nos nós. *Discocriconemella limitanea* P184026 foi usado como outgroup. Os números próximos aos nomes dos espécimes representam o grupo haplotípico e as cores representam diferentes espécies.

**Tabela 8.** Códigos dos espécimes de *Mesocriciconema* sequenciados, espécie identificada, amostra de origem e códigos de acesso ao GenBank.

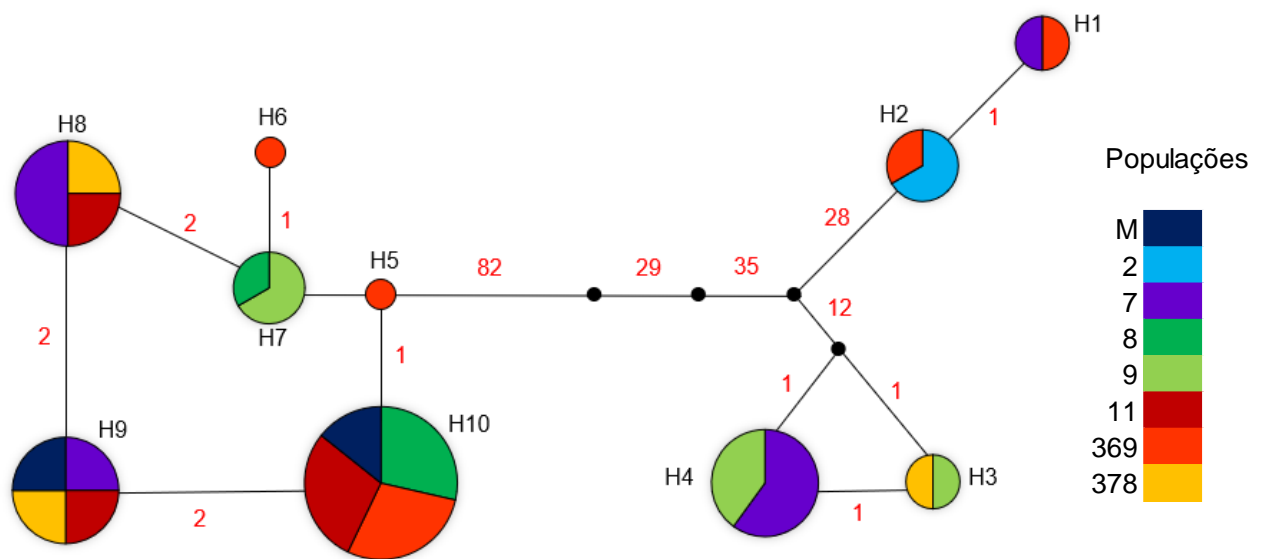
<b>Espécime</b>	<b>Espécie</b>	<b>Amostra</b>	<b>Código GenBank</b>	<b>Espécime</b>	<b>Espécie</b>	<b>Amostra</b>	<b>Código GenBank<sup>1/</sup></b>
MxB5	<i>M. xenoplax</i>	Mayer <sup>1/</sup>	OP418003	MxB233	<i>M. xenoplax</i>	11	OP431937
MxB10	<i>M. xenoplax</i>	Mayer	OP428648	MxB235	<i>M. xenoplax</i>	11	OP431938
MxB15	<i>M. xenoplax</i>	8	OP431930	MxB236	<i>M. xenoplax</i>	11	OP431939
MxB20	<i>M. xenoplax</i>	8	OP431931	MxB239	<i>M. xenoplax</i>	11	OP431940
MxB40	<i>M. xenoplax</i>	369	OP431941	McB53	<i>M. curvatum</i>	378	OP431950
MxB44	<i>M. xenoplax</i>	369	OP431942	McB200	<i>M. curvatum</i>	9	OP431947
MxB45	<i>M. xenoplax</i>	369	OP431943	McB203	<i>M. curvatum</i>	9	OP431949
MxB46	<i>M. xenoplax</i>	378	OP431934	McB208	<i>M. curvatum</i>	9	OP431948
MxB50	<i>M. xenoplax</i>	378	OP431935	McB221	<i>M. curvatum</i>	7	OP431944
MxB209	<i>M. xenoplax</i>	9	OP431932	McB223	<i>M. curvatum</i>	7	OP431945
MxB210	<i>M. xenoplax</i>	9	OP431933	McB224	<i>M. curvatum</i>	7	OP431946
MxB213	<i>M. xenoplax</i>	7	OP428649	MrB34	<i>M. rusticum</i>	369	OP431951
MxB216	<i>M. xenoplax</i>	7	OP428652	MrB35	<i>M. rusticum</i>	369	OP431952
MxB222	<i>M. xenoplax</i>	7	OP428650	MrB167	<i>M. rusticum</i>	2	OP431953
MxB225	<i>M. xenoplax</i>	7	OP428651	MrB178	<i>M. rusticum</i>	2	OP431954
MxB232	<i>M. xenoplax</i>	11	OP431936	MrB219	<i>M. rusticum</i>	7	OP431955

<sup>1/</sup>Amostra proveniente de pessegueiro.

O agrupamento observado na análise filogenética se mostrou atípico, pois não houve tendência de agrupamento por região de origem dos exemplares para nenhuma das espécies. Entretanto, observou-se a separação desses indivíduos de acordo com o grupo haplotípico, sugerindo uma intensa variabilidade entre essas populações dentro de cada espécie.

Na análise de diversidade haplotípica foram identificados dez haplótipos compartilhados entre as populações, esquematizados pela rede de haplótipos na Figura 6. O haplótipo 1 foi formado apenas por indivíduos da espécie *M. rusticum*, provenientes das populações 7 e 369. Da mesma forma, o haplótipo 2 também foi representado por esta espécie, mas composto por exemplares da população 2 e 369. Os haplótipos 3 e 4 incluíram apenas exemplares de *M. curvatum*, provenientes das populações 7, 9 e 378. Os demais haplótipos foram constituídos pela espécie *M. xenoplax*, porém, foram observados vários passos mutacionais entre os haplótipos das diferentes espécies, indicando que a amostragem precisa ser maior para a variabilidade ser melhor representada. A partir da rede de haplótipos pode-se observar que, mesmo com o número reduzido de indivíduos, algumas das populações estudadas apresentam mais de um haplótipo entre os indivíduos que as constituem.

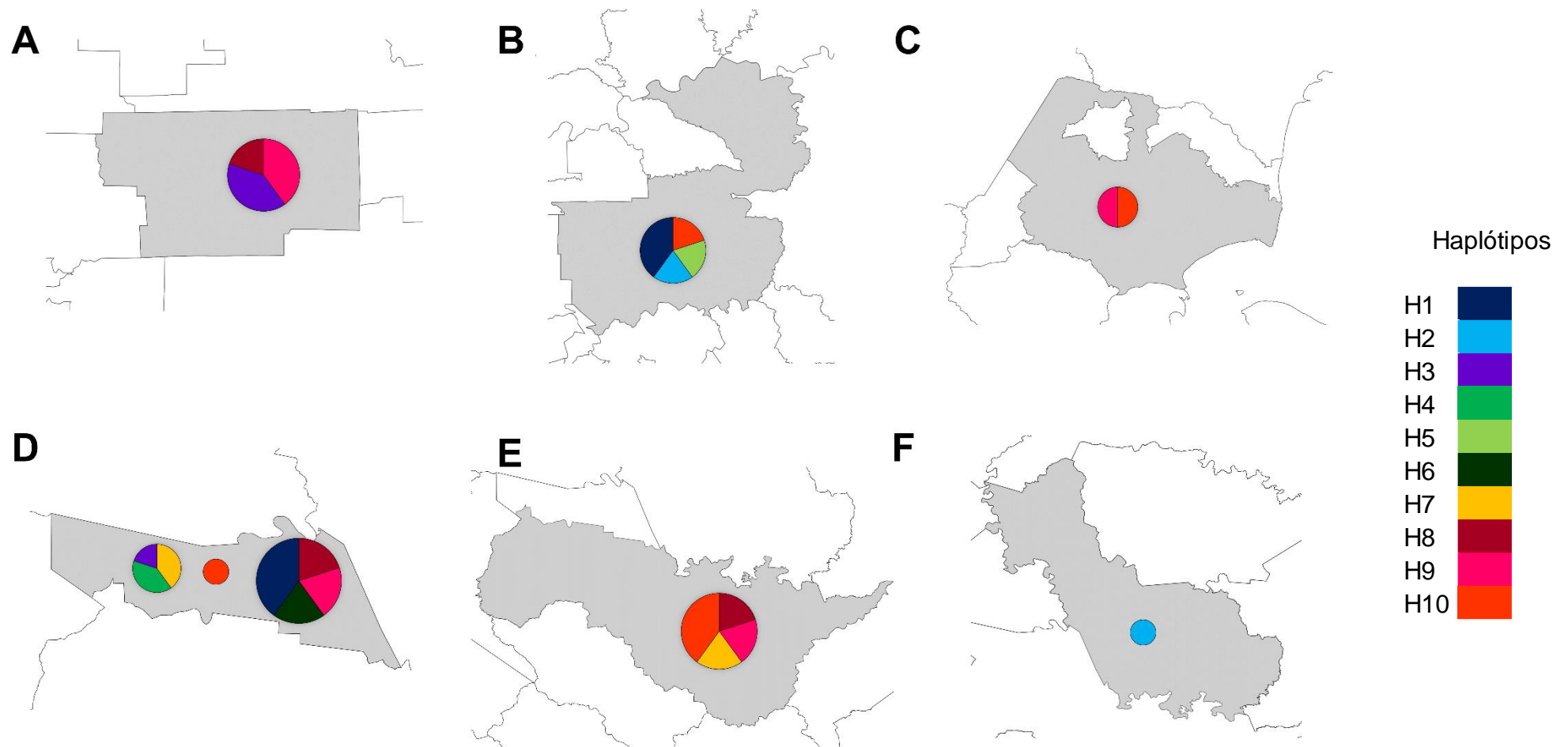
Na Figura 7 é possível observar a distribuição dos haplótipos de acordo com o local de coleta. Devido ao maior número de indivíduos sequenciados, a população do município de Pinheiro Preto (amostra 7; Tabela 8) apresentou a maior variabilidade, sendo representada por oito dos dez haplótipos identificados. Por outro lado, apenas um haplótipo foi identificado na população do município de Videira (amostra 2), na qual apenas dois exemplares foram sequenciados. Nas populações de Tangará (amostra 11) e Caxias do Sul (amostra 369) foram identificados cinco haplótipos para cada e que as duas populações compartilham o haplótipo 10. Similarmente, uma população de Pinheiro Preto compartilha os mesmos haplótipos com as populações dos demais municípios, exceto de Videira. Diversidade haplotípica também foi observada para a população proveniente de plantas de pessegueiro, onde dois haplótipos foram identificados (H9 e H10).



**Figura 6.** Rede de haplótipos gerada a partir de sequências do gene COI de três espécies de *Mesocriconema*. Grupos de haplótipos (H) são representados como círculos (nós) e o tamanho de cada nó é proporcional ao número de indivíduos que compartilham o mesmo haplótipo. A coloração do nó representa cada população. Nós em preto são vetores médios e indicam haplótipos não detectados e separados por mutações. Os valores (em vermelho) nos ramos indicam o número de mutações entre os haplótipos. Na barra de cores, cada população é representada por uma cor.

Os resultados deste estudo corroboram, em parte, com os resultados relatados por Divers (2018), onde foram identificadas, morfológica e morfometricamente, 6 espécies. Neste estudo não foram identificadas as espécies *M. sphaerocephalum*, *M. ornatum* e mais sete espécies indefinidas, as quais possivelmente se tratava de morfoespécies, como relatado por Powers et al., (2014), o que pode ser explicado, em parte, pelo número de exemplares sequenciados.

O gênero *Mesocriconema* até hoje é alvo de discussões entre os taxonomistas devido à grande similaridade entre as espécies que o compõem (OLSON et al., 2017). A reprodução neste gênero ocorre por partenogênese mitótica e os machos são extremamente raros (BRZESKI; LOOF; CHOI, 2002). Acredita-se que os machos de *Mesocriconema* desempenhem pouco ou nenhum papel na reprodução e que genomas mitocondriais e nucleares sejam herdados clonalmente, sendo a partenogênese assumida como a forma primária de reprodução deste gênero (POWERS et al., 2014).



**Figura 7.** Distribuição dos haplótipos nas áreas amostradas. Cada círculo representa uma amostra e seu tamanho é proporcional ao número de indivíduos que o compõem. Na barra de cores, cada cor representa um haplótipo. **A)** Garibaldi. **B)** Caxias do Sul. **C)** Pelotas. **D)** Pinheiro Preto. **E)** Tangará. **F)** Videira.

Em gêneros como *Mesocriconema*, a reprodução assexuada é geralmente considerada como um beco sem saída evolutivo, e as dificuldades para as linhagens se adaptarem ao ambiente são significativamente maiores devido à possível falta de plasticidade genética (CASTAGNONE-SERENO; DANCHIN, 2014). No entanto, ao contrário das espécies sexuais, as espécies de nematoides-anelados, partenogênicas mitóticas, são notavelmente difundidas e polífagas, com capacidade de parasitar uma ampla gama de hospedeiros (SCHREINER; ZASADA; PINKERTON, 2012; POWERS et al., 2014). Embora isso possa refletir, em parte, na estabilidade dos ambientes agrícolas, o extremo sucesso parasitário dessas espécies clonais aponta-as como um paradoxo evolutivo notável em relação às teorias atuais sobre os benefícios da reprodução sexuada e pode ser um caminho para entender os eventos de especiação em um grupo onde cada vez mais são descobertas novas espécies (CASTAGNONE-SERENO; DANCHIN, 2014). Embora o gênero *Mesocriconema* ainda careça de estudos, sabe-se que para outros fitonematoides, com o mesmo tipo de reprodução, a maior parte do genoma é composta por pares de segmentos homólogos que, presumivelmente, evoluíram independentemente da ausência de recombinação sexual (BIRD et al., 2015). Juntamente com estudos recentes sobre outros sistemas biológicos, esta observação sugere que a inovação funcional poderia emergir de uma arquitetura de genoma tão peculiar, que pode, por sua vez, explicar as capacidades adaptativas desses parasitas assexuados (NYGUYEN, 2018).

Estudos realizados por De Ley et al. (2005) indicaram que populações de *Mesocriconema* no sul da Califórnia eram geneticamente heterogêneas, com diferenciação entre as populações costeiras e internas, que poderiam se correlacionar com diferenças na capacidade reprodutiva nas variedades de porta-enxertos plantadas nas áreas de coleta das populações. Similarmente, Cordero, Robbins e Szalanski (2012) relataram elevada variação morfométrica entre as populações de *M. xenoplax* de diferentes regiões e espécies hospedeira. Entre as nove populações estudadas no estudo em questão, todas mostraram-se morfometricamente distintas, ainda que dentro da faixa de delimitação de *M. xenoplax*. Resultados semelhantes foram observados no presente estudo, onde variações morfométricas marcantes foram observadas entre as populações desta espécie.

É importante salientar o quão difícil é a identificação de espécies de *Mesocriconema*, devido aos táxons intimamente relacionados, ou seja, as diferenças entre as espécies são tão pequenas que chegam a colocar em questão se alguns

indivíduos realmente se trata de outra espécie ou são morfotipos, indivíduos com variações morfológicas pertencentes a uma mesma espécie (CORDERO; ROBBINS; SZALANKI, 2012; KAUR; TRAKUR; KHAN, 2012). Há uma estimativa de 487 espécies válidas na família Criconematidae, de acordo com a última revisão, o que dificulta mais ainda o estabelecimento de limites entre elas (GERAERT, 2010). Assumindo que a distinção morfológica é o critério usado para estabelecer estas espécies, a perspectiva de que cada morfoespécie comporia novas espécies, resultaria em um aumento expressivo no número de espécies em um táxon que já se presume ser "hiperdiverso" (PUILLANDRE et al., 2012; DEY et al., 2013).

Powers et al. (2014) mencionaram que algumas das espécies do gênero *Mesocriconema*, consideradas cosmopolitas em sua distribuição, são na verdade, agrupamentos polifiléticos multiespecíficos e uma avaliação precisa das distribuições das espécies deste gênero deve ser realizada para melhor compreensão da variabilidade genética deste grupo de nematoides. No referido estudo os autores obtiveram sucesso na amplificação de 242 espécimes, porém não forneceram informações a respeito da eficiência do protocolo para amplificação do DNA mitocondrial (mtDNA) nas populações estudadas. No presente estudo, o protocolo proposto pelos autores demonstrou baixa eficiência e, entre os fatores que podem ter contribuído para este resultado é o acesso ao DNA alvo, visto que após a eletroforese em gel de agarose, foi possível observar grande quantidade de primers, sugerindo que estes não anelaram ao fragmento alvo e não houve amplificação. Considerando a localização do mtDNA, fica subentendido a dificuldade de acesso aos fragmentos alvo, pois são moléculas extranucleares, localizadas no interior das mitocôndrias e protegidas pela membrana interna da matriz mitocondrial. Diante disso, novos protocolos precisam ser desenvolvidos e testados para aplicação em estudos de diversidade genética em criconematídeos.

Quanto aos caracteres morfológicos, as maiores dificuldades para delimitar as espécies foi observada para *M. curvatum*, pois grande variação entre os caracteres foi constatada. Seguindo o estudo de Powers et al. (2014) como modelo, os autores também relataram esta dificuldade. Além disso, não está claro na literatura taxonômica quais as características diagnósticas delimitam *M. curvatum* das demais, observando-se, muitas vezes, a sobreposição de caracteres. Segundo a descrição original de *M. curvatum*, uma das características mais importantes é a observação dos lobos submedianos, os quais possuem formato cônico e o primeiro anel labial dividido

em placas labiais irregulares. Porém, estas características somente são visualizadas por meio de microscopia de varredura, técnica não utilizada no presente estudo.

Segundo Brzeski, Loof e Choi (2002), a separação de *M. xenoplax* é baseada no estilete mais curto de *M. curvatum* e no formato da vagina (reta) de *M. curvatum* versus a forma da vagina sigmoide associada a *M. xenoplax*. A cauda é descrita como variável, mais ou menos arredondada com a ponta cônica. Geraert (2010) também relatou que os juvenis apresentaram margens anelares irregulares, mas os adultos podem apresentar margens lisas.

*Mesocriconema rusticum* é uma espécie cosmopolita e geralmente está associada à vegetação de cobertura (WOUTS, 2006). Segundo Powers et al., (2014), a espécie pode ser confundida com *M. discus* devido às similaridades na região labial das duas espécies, principalmente a presença de grandes lobos submedianos de truncados. Alguns autores consideram que o formato da cauda pode ser utilizado para delimitar estas duas espécies, onde *M. rusticum* apresenta terminação truncada e uma leve curvatura dorsal. Por outro lado, o formato do lábio anterior da vulva difere de *M. xenoplax*, não sendo observado lóbulos arredondados como nesta última.

Apesar de confirmada a separação das espécies pela análise filogenética, o agrupamento gerado não foi claro o suficiente para entender as relações entre as populações, provavelmente devido ao reduzido número de exemplares representante de cada população, refletindo na formação dos grupos. Adicionalmente, um maior número de exemplares precisa ser incluído nesta análise, assim como na análise de diversidade de haplótipos para que os resultados se tornem mais representativos para as regiões amostradas.

É bastante provável que amostragens adicionais de *Mesocriconema* continuem a revelar alta variabilidade inter e intraespecífica entre os criconematídeos associados ao declínio e morte da videira no Sul do Brasil, visto os diversos ambientes que estes parasitas ocorrem. Isto não seria inesperado. Além disso, os caracteres utilizados para delimitar as espécies necessitam de revisão. Análises moleculares em alguns táxons de nematoides bem estudados, como *Caenorhabditis* (KIONTKE et al. 2011) e *Globodera* (HANDOO et al. 2012) revelaram variações que forçaram a reconsideração dos caracteres diagnósticos. No caso do *Mesocriconema*, a variação morfológica em caracteres diagnósticos-chave dentro das espécies e a sobreposição de caracteres morfológicos entre elas cria grandes dificuldades na identificação e no reconhecimento dos limites. Exemplos óbvios incluem a variação do grau de crenação



nas margens anulares, o lábio anterior da vulva e a interpretação da forma da vagina. Esses caracteres diagnósticos precisam ser sistematicamente reavaliados dentro do contexto de agrupamentos derivados molecularmente para realizar plenamente o conteúdo de informação das unidades taxonômicas. Essa percepção, por sua vez, permitirá que a taxonomia de nematoides se integre melhor e contribua para questões de biodiversidade.

## **2.4. Conclusões**

Diferentes espécies de *Mesocriconema* estão associadas à vinhedos em declínio nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, entre elas, *M. xenoplax*, *M. curvatum* e *M. rusticum*.

Os caracteres diagnósticos das espécies do gênero *Mesocriconema* precisam ser revistos a fim de determinar o limite entre as espécies.

Existe variabilidade inter e intraespecífica entre as espécies detectadas, porém há necessidade de maior representatividade das populações.

Novos protocolos para amplificação do mtCOI precisam ser testados para criconematídeos.

### 3. CAPÍTULO II. Respostas bioquímicas e reação de genótipos de videira frente ao nematoide-anelado (*Mesocriconema xenoplax*) e interação com *Ilyonectria macrodidyma*

#### 3.1. Introdução

A viticultura é, sem dúvidas, uma das atividades agrícolas de maior relevância na região Sul do Brasil (CONAB, 2020). Entretanto, diversos fatores limitantes ao seu cultivo impedem a obtenção de índices satisfatórios de produtividade, entre eles, problemas fitossanitários associados aos fitonematoides, fungos causadores de doenças do tronco da videira (DTV) e a pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis* Wille, 1922) (RUMBOS et al., 2001; CAVALCANTI et al., 2013; BOTTON et al., 2020).

Historicamente, os viticultores desta região enfrentam problemas de mortalidade de videiras, os quais se intensificaram entre as décadas de 1980 e 1990, quando o cultivo apresentou diminuição considerável da área plantada e registros de muitos casos de perdas de vinhedos inteiros (SHUCK et al., 1993; MENEZES-NETTO et al., 2016). A redução da área cultivada e do grande número morte de plantas foi atribuída a síndrome conhecida como declínio e morte da videira (DMV), um problema caracterizado pela morte acentuada de plantas, as quais apresentam sintomas de clorose internerval, redução de vigor e entrenós curtos. De etiologia complexa, o DMV tem sido associado a fatores bióticos e abióticos e, entre os fatores bióticos está o nematoide-anelado (*Mesocriconema xenoplax* [Raski, 1952] Loof & De Grisse, 1989) e fungos causadores de doenças do troco da videira (GARRIDO et al., 2004; GOMES; CAMPOS; COSTA, 2009; CAVALCANTI et al., 2013; DIVERS et al., 2019).

Fungos causadores de DTV, principalmente do gênero *Cylindrocarpon* (teleomorfo *Ilyonectria*), também têm sido associados a vinhedos em declínio, porém pouco se sabe a respeito da interação entre estes agentes e fitonematoides no desenvolvimento do DMV. Acredita-se que as lesões provocadas pelos nematoides durante a alimentação nas raízes atuem como aberturas para a entrada de outros patógenos. Na Nova Zelândia, Bleach, Jones e Jaspers (2007) relataram a presença de *Cylindrocarpon macrodidymum* Schroers, Halleen & Crous (Teleomorfo: *Ilyonectria*), *Cylindrocarpon destructans* (Zinssm.) Scholten e *Cylindrocarpon*

*liriodendri* MacDon. & Butler, agentes etiológicos do pé-preto da videira, em 87% das plantas em declínio, com prevalência do primeiro (36%). No Brasil, Garrido et al. (2004) identificaram sete gêneros, sendo *Cylindrocarpon* Wollenw., 1913 o de maior frequência, assim como Santos et al. (2014a, 2014b) relataram a ocorrência de *Ilyonectria macrodidyma* (Halleen, Schroers & Crous) Chaverri & Salgado, *Ilyonectria robusta* (Hildebr.) Cabral & Crous e *Cylindrocarpon pauciseptatum* Schroers & Crous em plantas sintomáticas. Entretanto, estes estudos não fazem menção a presença de fitonematoides.

Como capitulado anteriormente, várias espécies de fitonematoides já foram relatadas parasitando plantas de videira, como diversas espécies do nematoide-das-galhas (*Meloidogyne* Goeldi, 1982), o nematoide-anelado (*M. xenoplax*), algumas espécies do nematoide-adaga (*Xiphinema* Cobb, 1913), o nematoide-dos-citros, (*Tylenchus semipenetrans* Cobb, 1913), e o nematoide-das-lesões-radiculares (*Pratylenchus* Thorne, 1949) (PINKERTON et al., 1999; WALKER; STIRLING, 2008; GOMES; CAMPOS; COSTA, 2009; ASKARY et al., 2018; DIVERS et al., 2019). Na literatura nematológica, alguns estudos demonstraram que estes parasitas afetam o desenvolvimento de doenças e a expressão de sintomas em uma variedade de patossistemas (POWELSON; ROWE, 1993; LA MONDIA, 2003; CAO et al., 2006), porém, durante o levantamento bibliográfico ora realizado, constatou-se que os dados são extremamente exíguos e antigos sobre suas interações com *Ilyonectria* spp. (HASTINGS; BOSHER, 1938; BOOTH; STOVER, 1974; SUTHERLAND, 1977).

Em relação a reação de genótipos de videira frente aos fitonematoides, expressa em termos de resistência/suscetibilidade, há um significativo número de estudos disponíveis, produzidos principalmente no exterior, mais comumente nos Estados Unidos. Entretanto, no Brasil e no exterior, tais estudos priorizam a caracterização da reação a espécies do nematoide-das galhas (*Meloidogyne* spp.) (ANWAR; McKENRY, 2002; FERRIS; ZHENG; WALKER, 2012; GOMES; SOMAVILLA; QUECINI, 2014; VEGA-CALLO; TAMO-ZEGARRA; BELLÉ, 2021), sendo raros os estudos envolvendo a reação a *M. xenoplax*. Por conseguinte, informações sobre a reação dos principais genótipos utilizados na viticultura brasileira frente ao nematoide-anelado ainda são seriamente escassos.

Ainda em relação a *M. xenoplax*, os poucos estudos disponíveis na literatura evidenciam divergência na reação dos genótipos avaliados, caracterizando-se como resistentes em um estudo (PINKERTON et al., 2005; McKENRY; ANWAR, 2006) e

como suscetíveis em outro (FERRIS; ZHENG; WALKER, 2012). Ademais, o impacto deste nematoide no crescimento e produtividade de videiras ainda é pouco compreendido, pois os estudos envolvendo este patossistema não mencionam alterações nos parâmetros de desenvolvimento das plantas, perdas ou as alterações bioquímicas por ele desencadeadas, baseando-se apenas no fator reprodutivo do nematoide (RASKI; RADEWALD, 1958; PINKERTON et al. 1999; SCHREINER; ZASADA; PINKERTON, 2012; FORGE et. al, 2020).

No que concerne aos fitonematoides endoparasitas sedentários, alterações bioquímicas são bem conhecidas, principalmente em relação a atividade de enzimas antioxidantes, como peroxidase (POX), superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT) e polifenoloxidase (PPO) (SUNDARARAJU; PANDISUBA, 2006; KESBA; EL-BELTAGI, 2012; LOBNA et al., 2017; PANDEY, 2020). Por outro lado, não existem dados sobre as alterações bioquímicas desencadeadas durante a interação de genótipos de videira e um ectoparasita como *M. xenoplax*.

Diante do cenário exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a reação de genótipos e respostas bioquímicas de *Vitis* spp. utilizados na região Sul do Brasil frente ao nematoide-anelado, assim como analisar o efeito da interação entre *M. xenoplax* e *I. macrodidyma* na predisposição de plantas ao declínio.

## **3.2. Material e Métodos**

Os estudos descritos a seguir foram realizados nos Laboratórios de Fisiologia Vegetal e Fitopatologia da Embrapa Clima Temperado e de Bioquímica Vegetal da Universidade Federal de Pelotas e com o setor de propagação de porta-enxertos e cultivares de videira da Embrapa Uva e Vinho.

### **3.2.1. Reação de genótipos de videira a *Mesocriconema xenoplax***

O ensaio de reação foi realizado sob condições de casa de vegetação, no período de 02/04/2020 a 10/12/2021, nas instalações da Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS (31°40'53.16"S 52°26'23.60"W; 58 m de altitude).

O material vegetal utilizado foi produzido através de micropropagação de estacas e cultura de tecidos pelo Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Uva e Vinho (Bento Gonçalves/RS), cujas mudas foram provenientes de 11 porta-enxertos (R99, Harmony, Kober 5BB, IAC 313 Tropical, Paulsen 1103, Salt Creek, Gravesac, VR 043-43, IBCA125, 548-44 e 1111-21) e três cultivares copa (Chardonnay, Bordô e Niagara Rosada) de videira, cujos progenitores estão apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9.** Porta-enxertos e cultivares copa de videira e seus respectivos parentais.

<b>Genótipo</b>	<b>Parentais</b>
Paulsen 1103	<i>Vitis berlandieri</i> x <i>Vitis rupestris</i>
IAC 313 Tropical	<i>Vitis riparia</i> x <i>Vitis rupestris</i> x <i>Vitis cinerea</i>
Salt Creek	<i>Vitis champinii</i>
Gravesac	161-49 ( <i>V. riparia</i> x <i>V. berlandieri</i> ) x 3309 C ( <i>V. riparia</i> x <i>V. rupestris</i> )
VR 043-43	<i>Vitis rotundifolia</i> x <i>Vitis vinifera</i>
IBCA125	Isabel ( <i>V. labrusca</i> ) x Carlos ( <i>V. rotundifolia</i> )
548-44	Isabel ( <i>V. labrusca</i> ) x Magnolia ( <i>V. rotundifolia</i> )
1111-21	Seyve Villard ( <i>V. vinifera</i> ) x Magnolia ( <i>V. rotundifolia</i> )
Kober 5BB	<i>Vitis berlandieri</i> x <i>Vitis riparia</i>
R99	<i>Vitis berlandieri</i> x <i>Vitis rupestris</i>
Harmony	<i>V. champinii</i> x <i>V. vinifera</i> x <i>V. riparia</i> x <i>V. labrusca</i>
Bordô	<i>Vitis labrusca</i>
Chardonnay	<i>Vitis vinifera</i>
Niagara Rosada	<i>Vitis labrusca</i>

As mudas dos diferentes genótipos foram transplantadas, individualmente, em vasos de polietileno com capacidade de 5L, contendo solo esterilizado. Uma população pura, previamente identificada como *M. xenoplax*, procedente de vinhedos em declínio e mantida em plantas de pessegueiro cv Chimarrita, foi utilizada como inóculo. Decorridos 20 dias do transplante das mudas, o solo de cada vaso foi infestado com 1000 espécimes (*População inicial-Pi*) de *M. xenoplax*, adicionando-se 60g de solo infestado em uma abertura no solo próximo as raízes, redor de cada muda.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 14x2 (14 genótipos, inoculado ou não), com seis repetições para cada tratamento. As plantas foram mantidas em casa de vegetação ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) por um período de 252 dias, sendo monitoradas diariamente quanto a necessidade de água e tratamentos culturais. Para comparação dos danos causados pelo nematoide, plantas não inoculadas foram mantidas sob as mesmas condições.

#### **3.2.1.1. Prospecção dos danos causados por *M. xenoplax***

Decorridos 252 dias da inoculação (DAI), amostras de folhas e pecíolos foram coletadas, pesadas e acondicionadas em freezer ( $-20^\circ\text{C}$ ) para as análises bioquímicas. Em seguida, as plantas foram retiradas dos vasos e avaliadas quanto aos teores de clorofila total e carotenoides, peso fresco da parte aérea e peso fresco de raízes. Os teores de clorofila total e carotenoides foram avaliados pelo método do dimetilsulfóxido (DMSO), descrito no próximo item.

O solo de cada tratamento foi coletado, homogeneizado e, uma alíquota de  $250\text{cm}^3$  foi utilizada para extração dos nematoides pelo método de peneiramento e flotação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964). Em seguida, a contagem dos nematoides foi realizada sob microscópio estereoscópio (Impac Tokyo), obtendo-se uma estimativa da população final ( $P_f$ ) para a determinação do fator de reprodução do nematoide ( $\text{FR} = P_f/P_i$ ) (OOSTENBRINK, 1966). Adicionalmente, a reação dos genótipos foi classificada de acordo com os valores de FR, considerando-se como resistentes, aqueles cujo nematoide apresentou  $\text{FR} < 1,00$ , imunes, aqueles onde não houve reprodução do nematoide ( $\text{FR} = 0$ ) e suscetíveis aqueles com  $\text{FR} > 1,00$  (OOSTENBRINK, 1966).

Quanto às análises bioquímicas, foram avaliados os teores de carboidratos totais, proteínas totais e a atividade específica das enzimas peroxidase, polifenoloxidase, catalase, superóxido dismutase, ascorbato peroxidase, fenilalanina amônia-liase e  $\beta$ -1,3-glucanase, conforme descrito nos itens seguintes.

#### **3.2.1.2. Determinação dos teores de pigmentos fotossintéticos**

Os teores de pigmentos fotossintéticos foram avaliados pelo método do DMSO, proposto por Wellburn (1994). Para extração dos pigmentos, discos foliares com

1,77cm<sup>2</sup> foram obtidos de folhas jovens e completamente expandidas de cada repetição. Em seguida, uma alíquota de 7mL de solução de DMSO (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>OS), saturada com carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>), foi adicionada a tubos de ensaio previamente identificados. Um disco foliar de cada repetição foi adicionado ao tubo correspondente, seguindo para incubação em banho-maria a 65°C por 30 minutos, até que o disco foliar estivesse completamente transparente. Durante a incubação, os tubos foram vedados para evitar a evaporação da solução de DMSO. Após esse período, os tubos foram mantidos no escuro até atingir a temperatura ambiente.

As leituras das absorbâncias foram realizadas nos comprimentos de onda de 480nm, 649nm e 665nm em espectrofotômetro Bel Photonics, modelo 1105 (nível de resolução de 1 a 4nm) para determinação dos teores de clorofila a, b, total e carotenoides. Os teores de clorofila e carotenoides foram expressos em mg de clorofila ou carotenoides por grama de matéria fresca.

### **3.2.1.3. Determinação da atividade da peroxidase (EC 1.11.1.7)**

A determinação da atividade da enzima peroxidase (PO) foi realizada por meio do método proposto por Campos e Silveira (2003). Para obtenção dos extratos, as amostras de folhas congeladas (500mg) foram trituradas em almofariz com pistilo com 10 mL de tampão fosfato 0,05 M (pH 7,0) e 1mg de polivinilpirrolidona a 2% (PVP10). O homogeneizado foi filtrado à vácuo e centrifugado a 6000 rpm em temperatura entre 0°C e 4°C por 30 minutos e, em seguida, o extrato bruto foi coletado em tubos de material acrílico (20mL) e acondicionado em gelo para utilização como fonte enzimática.

Para a reação, em tubos de ensaio previamente identificados, foram pipetados 2,5mL de tampão citrato (pH 5,0), contendo solução de fosfato de sódio dibásico 0,2M (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) e ácido cítrico 0,1M (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>) (pH 5,0); 1,5mL do extrato enzimático, 0,25mL de solução de guaiacol (C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>) a 0,5% e 0,25mL de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a 3%, homogeneizados em agitador vórtex e incubados em banho-maria a 30°C por 15 minutos. Após a incubação, os tubos foram para banho de gelo e uma alíquota de 0,25mL de solução de meta-bissulfito de sódio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) a 2% foi adicionada ao sistema de reação. Em seguida, os tubos foram agitados e mantidos em repouso por 10 minutos em temperatura ambiente para paralisar a reação.

As leituras das absorvâncias foram realizadas no comprimento de onda de 450nm, em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV - 1601PC. Como controle para a reação enzimática, foi utilizada água deionizada. A atividade enzimática específica foi expressa em unidade enzimática (U.E) por minuto por mg de proteína.

#### **3.2.1.4. Determinação da atividade da polifenoloxidase (EC 1.10.3.1)**

A atividade da enzima polifenoloxidase (PFO) foi determinada de acordo com Campos e Silveira (2003). Para obtenção dos extratos, o método foi o mesmo descrito anteriormente para a enzima peroxidase (item 3.2.4), diferenciando apenas nas etapas de reação e leitura. Para a reação, em tubos previamente identificados, foram adicionados 3,6mL de tampão fosfato 0,05M (pH 6,0), 1mL do extrato bruto e 0,1mL de solução de catecol 0,1M (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>), homogeneizados em agitador vórtex por quinze segundos e incubados em banho-maria a 30°C por 60 minutos. Após a incubação, os tubos foram imediatamente para o banho de gelo e uma alíquota de 0,20mL de solução de ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>) a 6,9% foi adicionada ao sistema de reação. Em seguida, os tubos foram novamente agitados e mantidos em repouso por 10 minutos em temperatura ambiente para paralisar a reação.

As leituras das absorvâncias foram realizadas no comprimento de onda de 395nm, em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV - 1601PC. Como controle para a reação enzimática, foi utilizada água deionizada. A atividade enzimática específica foi expressa em unidade enzimática (U.E) por minuto por mg de proteína.

#### **3.2.1.5. Determinação da atividade da fenilalanina amônia-liase (EC 4.3.1.5)**

A atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) foi determinada de acordo com método proposto por Hyodo e Yang (1971) com modificações de Campos et. al. (2003). O extrato enzimático foi obtido por meio da maceração de 500 mg de folhas congeladas, diretamente no tubo de centrífuga, em banho de gelo. Ao tubo com material vegetal, foi adicionado 1mL de tampão borato 0,05 M (pH 8,5), composto de ácido bórico 0,1 M (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>), cloreto de potássio 0,1M (KCl), hidróxido de sódio 0,1 N (NaOH), polivinilpirrolidona 10 (PVP10) e β-mercaptoetanol (HSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), procedendo a maceração. Em seguida, uma alíquota de 7mL de tampão borato



(pH 8,5) foi adicionada ao material macerado, totalizando 8mL. O material foi centrifugado a 6000 rpm em temperatura entre 0 e 4°C, por 30 min e o sobrenadante filtrado em algodão, à vácuo e em banho de gelo. O extrato filtrado foi recolhido e acondicionado no gelo para posterior leitura, realizada no mesmo dia.

O sistema de reação para o procedimento de leitura consistiu em 4mL de tampão borato (pH 8,5), 0,25mL do extrato (água deionizada para prova em branco) e 0,06mL de solução de fenilalanina 100mM, seguido de agitação em vórtex. A reação foi conduzida por meio de incubação em banho-maria a 40°C, por 60 minutos. Após a incubação, os tubos foram novamente agitados em vórtex e mantidos em repouso por 5 minutos para completar a reação.

As leituras das absorbâncias foram realizadas contra uma curva padrão, imediatamente após o período de repouso, no comprimento de onda de 290nm, em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV - 1601PC. A atividade enzimática específica foi expressa em unidade enzimática (U.E), por hora, por mg de proteína.

#### **3.2.1.6. Determinação da atividade da $\beta$ -1,3-glucanase (EC 3.2.1.6)**

A atividade da  $\beta$ -1,3-glucanase ( $\beta$ -GLU) foi determinada de acordo com método proposto por Abeles e Forrence (1970) com modificações de Campos (2009). Para obtenção dos extratos, 500mg de pecíolos de cada repetição foram macerados em almofariz com pistilo, em tampão citrato 0,1M (pH 5,4) gelado, contendo ácido cítrico ( $C_6H_8O_7$ ), citrato de sódio ( $Na_3C_6H_5O_7$ ), ácido ascórbico ( $C_6H_8O_6$ ) e  $\beta$ -mercaptoetanol ( $HSCH_2CH_2OH$ ). O homogeneizado foi centrifugado a 15000rpm por 45min em temperatura entre 0 e 4°C e, ao final da centrifugação, o sobrenadante foi coletado, transferido para tubos de material acrílico e acondicionado em freezer (-20°C).

Na etapa de precipitação da enzima, uma alíquota de 0,5mL do extrato foi transferida para tubos de ensaio identificados, juntamente com 1mL de acetona gelada (-20°C), seguida de agitação em vórtex e incubação em freezer (-20°C) por 30 minutos. A suspensão foi centrifugada a 15000rpm por 30min a temperatura de -4 e 0°C e os precipitados sedimentados foram secos a vácuo por 48 horas, em temperatura ambiente.

Para a etapa de leitura, o sistema de reação foi composto pelo precipitado seco, ressuspenso em 62,5 $\mu$ L de tampão acetato 0,05M (pH 5,2), contendo ácido acético ( $CH_3COOH$ ) e acetato de sódio anidro ( $NaC_2H_3O_2$ ), seguido de agitação em vórtex.

Ao sistema de reação também foi adicionada uma alíquota de 0,1mL da solução de laminarina 4%, seguindo para incubação em banho-maria (40°C) por 10 minutos. A reação foi interrompida pela adição de 375µL do reagente dinitrosalicilato, contendo ácido dinitrosalicílico (C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), hidróxido de sódio (NaOH) e tartarato duplo de sódio e potássio (KNaC<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub>·4H<sub>2</sub>O); e incubação em banho-maria fervente (100°C) por 5 minutos. Após a incubação, as amostras seguiram imediatamente para banho de gelo. A solução colorida, resultante da reação, foi diluída em 4,5mL de água deionizada e agitada em vórtex.

As leituras das absorbâncias foram realizadas contra uma curva padrão, no comprimento de onda de 500nm, em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV - 1601PC. A atividade enzimática específica foi expressa em µmol de glicose por mg de proteína.

#### **3.2.1.7. Determinação da atividade da catalase (EC 1.11.1.6)**

A determinação da atividade da enzima catalase (CAT) foi realizada de acordo com métodos propostos por Beers e Sizer (1952) e Azevedo-Neto et al. (2006), por meio da taxa de oxidação do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Os extratos foram obtidos por meio da maceração de 500mg de folhas em almofariz com pistilo, adicionando nitrogênio líquido, polivinilpirrolidona 10 (PVP10) e tampão fosfato de potássio 100mM (pH7,8), contendo fosfato de potássio monobásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), fosfato de potássio dibásico (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 0,1mM (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) e ácido ascórbico 10mM (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>). O homogeneizado foi centrifugado a 13000 rpm por 20min a 4°C e o sobrenadante coletado e acondicionado em freezer (-20°C).

As reações foram conduzidas em microplacas de polimetilmetacrilato (PMMA), contendo 10µL do extrato enzimático e 170µL de tampão fosfato de potássio 100mM (pH 7,0), seguida de incubação a 28°C por 5 minutos. A reação foi ativada por meio da adição de 20µL solução de peróxido de hidrogênio 12,5mM (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) no momento da leitura, seguida de agitação por 5 segundos.

As absorbâncias foram obtidas por leitura cinética (5 em 5 segundos, durante 2 minutos) no comprimento de onda de 240nm, em leitora de microplacas SpectaMax, modelo M3. A atividade enzimática específica foi expressa em µmol de peróxido de hidrogênio, por minuto, por mg de proteína.

### **3.2.1.8. Determinação da atividade da ascorbato peroxidase (EC 1.11.1.1)**

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi determinada de acordo com métodos propostos por Nakano e Asada (1981) e Azevedo-Neto et al. (2006), utilizando ascorbato de sódio como substrato. Para obtenção dos extratos, o método foi o mesmo descrito anteriormente para a enzima catalase, diferenciando apenas nas etapas de incubação e leitura.

As reações foram conduzidas em microplacas de polimetilmetacrilato (PMMA), contendo 10µL do extrato enzimático, 200µL de tampão fosfato de potássio 100mM (pH 7,0), 140µL ascorbato de sódio 0,5mM ( $C_6H_7NaO_6$ ) e 50µL peróxido de hidrogênio 0,1mM ( $H_2O_2$ ), seguida de incubação a 28 °C por 5min.

As absorbâncias foram obtidas por leitura cinética (10 em 10 segundos, durante 2 minutos) no comprimento de onda de 290nm, em leitora de microplacas SpectaMax, modelo M3. A atividade enzimática específica foi expressa em µmol de ascorbato, por minuto, por mg de proteína.

### **3.2.1.9. Determinação da atividade da superóxido dismutase (EC 1.15.1.1)**

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi determinada de acordo com métodos propostos por Giannopolitis e Ries (1977) e Azevedo-Neto et al. (2006) pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT). Para obtenção dos extratos, o método foi o mesmo descrito anteriormente para a enzima catalase, diferenciando apenas nas etapas de incubação e leitura.

As reações foram conduzidas em microplacas de polimetilmetacrilato (PMMA), contendo 10µL do extrato enzimático, 100µL de tampão fosfato de potássio 100mM (pH 7,8), 2µL de EDTA 0,1 µM, 40µL de metionina 14mM ( $C_5H_{11}NO_2S$ ), 2µL de riboflavina 2 µM ( $C_{17}H_{20}N_4O_6$ ), 15µL de azul de nitrotetrazólio 75 µM e 31µL de água MilliQ. A reação foi ativada por meio da iluminação das amostras em uma caixa de poliestireno branco, fechada, contendo uma lâmpada fluorescente tipo U (6400k E-27 25 W 3u), durante 10 minutos. Para cada microplaca foi realizado um controle escuro (todos os reagentes, sem amostra e sem exposição a luz) e um controle claro (todos os reagentes, sem amostra e expostos a luz).

As leituras das absorvâncias foram realizadas, no comprimento de onda de 560nm, em leitora de microplacas SpectaMax, modelo M3. A atividade enzimática específica foi expressa em unidade enzimática (U.E) por minuto por mg de proteína.

#### **3.2.1.10. Determinação de proteínas totais**

A concentração de proteínas totais foi determinada pelo método proposto por Bradford (1976). Para obtenção dos extratos, 500mg de folhas de cada repetição foram macerados em almofariz com pistilo, em 0,5mL de tampão Tris-HCl 0,1 M (pH 7,5) gelado, contendo Tris-(hidroximetil)-aminometano ( $C_4H_{11}NO_3$ ), ácido clorídrico (HCl) 25%, polivinilpirrolidona 10 (PVP10) e  $\beta$ - mercaptoetanol ( $HSCH_2CH_2OH$ ); adicionando uma alíquota de 9,5 mL de tampão Tris-HCl ao final da maceração. O homogeneizado foi filtrado em algodão e a vácuo, centrifugado a 6000rpm por 30 minutos a temperatura entre 0 e 4°C e, em seguida, o sobrenadante foi coletado, transferido para tubos de material acrílico e acondicionado em freezer (- 20°C).

Para a etapa de leitura, em tubos de ensaio identificados, foi adicionada uma alíquota de 100 $\mu$ L do extrato e 5mL do reagente de Bradford, contendo azul brilhante de Coomassie G-250 ( $C_{47}H_{48}N_3NaO_7S_2$ ), etanol 95% ( $C_2H_6O$ ) e ácido fosfórico 85% ( $H_3PO_4$ ); seguido de agitação em vórtex e repouso por 15 minutos.

As leituras das absorvâncias foram realizadas contra uma curva padrão, no comprimento de onda de 595nm, em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV - 1601PC. A concentração de proteínas totais foi expressa em mg de proteína por grama de matéria fresca.

#### **3.2.1.11. Determinação do teor de carboidratos totais**

O teor de carboidratos totais no extrato foi determinado pelo método proposto por Yemm e Willis (1954). Os extratos foram obtidos por meio de maceração de 500mg de folhas em almofariz com pistilo, com nitrogênio líquido. O macerado foi transferido para tubos de centrífuga, adicionando 5mL de álcool etílico absoluto a 80% ( $CH_3CH_2OH$ ), vedado e incubado em banho-maria a 95°C por 10 minutos. Após a incubação, os volumes de álcool 80% foram ajustados e procedeu-se a centrifugação a 2500rpm por 5 minutos, coletando o sobrenadante ao final deste processo.

Para a etapa de leitura, em tubos de ensaio identificados, foi adicionada uma alíquota de 500µL do extrato, 500µL de água deionizada e, sob agitação, 5mL da solução de antrona 0,4%, contendo antrona (C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>O) e ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); seguindo para incubação em banho-maria fervente (100°C) por 15 minutos. Após a incubação, os tubos foram submetidos ao banho de gelo, agitados em vórtex e mantidos em repouso por 10 minutos.

As leituras das absorbâncias foram realizadas contra uma curva padrão, utilizando glicose como açúcar de referência, no comprimento de onda de 620nm, em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV - 1601PC. O teor de carboidratos totais foi expresso em porcentagem de carboidratos em base seca.

#### **3.2.1.12. Determinação do teor de matéria seca**

Para a determinação do teor de matéria seca, cápsulas de porcelana foram secas em estufa a 60°C por 1h. Em seguida, as cápsulas foram retiradas e resfriadas em dessecador. Posteriormente, aferiu-se o peso das cápsulas e adicionou-se as amostras, seguindo para estufa a 60°C. Após 24h, as amostras foram retiradas, transferidas para um dessecador e pesadas até atingirem massa seca constante.

#### **3.2.2. Estudo da interação entre *Mesocriconema xenoplax* e *Ilyonectria macrodidyma* em genótipos de videira**

##### **3.2.2.1. Instalação, infestação com *Mesocriconema xenoplax* e inoculação das plantas com *Ilyonectria macrodidyma***

O ensaio foi realizado sob condições de casa de vegetação, no período de 01/10/2020 a 10/04/2021, nas instalações da Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS (31°40'53.16"S 52°26'23.60"W; 58 m de altitude).

O material vegetal utilizado foi produzido através de micropropagação de estacas e cultura de tecidos pelo Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Uva e Vinho (Bento Gonçalves/RS). Foram utilizadas mudas de três porta-enxertos: Paulsen 1103, R99 e VR 043-43; e a cultivar copa: Bordô. Para infestação do solo com nematoides, o processo foi realizado conforme descrito no item 3.2.1, utilizando

a mesma população, número de nematoides e respeitando o mesmo período após o transplante das mudas.

Como inóculo de *I. macrodidyma*, foi utilizado o isolado TD 1117, previamente identificado (GenBank MK421588.1) e pertencente a coleção de microrganismos do Laboratório de Fitopatologia do Instituto Federal do Rio Grande do Sul/ Campus Bento Gonçalves. Para multiplicação, discos de 0,5cm de diâmetro, com estruturas do fungo e meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), foram retirados da amostra armazenada e transferidos para placas de Petri de 8,5 cm de diâmetro, contendo BDA. As placas foram mantidas por 10 dias em câmara de crescimento do tipo BOD a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas. Após esse período, as placas foram submetidas ao escuro, por 8 dias ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ), para esporulação.

Trinta dias após a infestação do solo com *M. xenoplax*, uma suspensão de  $10^4$  conídios/mL de *I. macrodidyma* foi calibrada e inoculada nas plantas correspondentes aos tratamentos (10mL/planta), através de orifícios próximo às raízes e ao redor de cada muda de videira. Os trinta dias foram estabelecidos para se ter pelo menos um ciclo completo do nematoide e ferimentos nas raízes das mudas.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial (4x4), com seis repetições. O fator genótipo teve quatro níveis, representados por quatro genótipos. Já o fator interação teve quatro níveis, a saber: infestação com nematoide e inoculação com fungo (+N+F), infestação com nematoide e sem fungo (+N-F), inoculação com fungo e sem nematoide (- N+F) e plantas não infestadas e não inoculadas (-N-F). Os tratamentos foram alocados e mantidos em casa de vegetação ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) por um período de 204 dias, sendo as plantas monitoradas diariamente quanto a necessidade de água e tratamentos culturais.

### **3.2.2.2. Avaliação de sintomas/danos e reisolamento *in vitro* de *I. macrodidyma***

Após 204 dias da inoculação (DAI) do fungo e infestação com nematoide, as plantas foram retiradas dos vasos e avaliadas quanto ao teor de clorofila total, carotenoides, massa fresca da parte aérea e de raízes. Os teores de clorofila total e carotenoides foram avaliados pelo método DMSO (item 3.2.1.2).

O solo de cada tratamento foi coletado, homogeneizado e, uma alíquota de 250cm<sup>3</sup> foi utilizada para extração dos nematoides pelo método de peneiramento e flotação centrífuga (JENKINS, 1964). Em seguida, a contagem dos nematoides foi

realizada sob microscópio estereoscópio (Impac Tokyo), obtendo-se uma estimativa da população final ( $P_f$ ) para a determinação do fator de reprodução ( $FR = P_f/P_i$ ) (OOSTENBRINK, 1966).

Para avaliação dos sintomas internos, os caules foram seccionados transversalmente na extremidade basal, separando a parte aérea das raízes. As secções transversais foram fotografadas com uma máquina fotográfica Nikon D5300 e a área necrótica foi calculada utilizando o software de processamento de imagens ImageJ versão 1.53n (FERREIRA; RASBAND, 2012). Fragmentos dos caules, padronizados em 20 cm de comprimento de cada repetição foram separados, lavados em água corrente e submetidos a desinfestação externa, utilizando, na sequência, álcool 70% (v/v), por 1 minuto, hipoclorito de sódio 3% (v/v) por 1 minuto e novamente álcool 70% (v/v) por 1 minuto (modificado de ALMANÇA et al. 2013). Após a desinfestação e em câmara de fluxo laminar previamente esterilizada, foi retirada a casca dos fragmentos e, em seguida, seccionados longitudinalmente para exposição dos tecidos internos. No momento em que os fragmentos foram seccionados, também foram realizadas as avaliações de sintomas de escurecimento interno, medindo-se a extensão do escurecimento vascular a partir da extremidade basal, com auxílio de um paquímetro digital (Starret 727).

O reisolamento de *I. macrodidyma* foi realizado para confirmar se o patógeno era capaz de atingir novos tecidos da planta e se os sintomas observados estavam atribuídos a sua presença. Para isso, fragmentos de até 1cm de comprimento foram separados e dispostos em placas de Petri, contendo meio de cultura BDA, respeitando o limite 3 placas por repetição/planta e de 4 fragmentos por placa. Posteriormente, as placas foram mantidas em câmara de incubação tipo BOD com temperatura de  $25 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 horas.

O crescimento foi observado por até 20 dias, sendo feita a identificação por morfologia comparativa (ÚRBEZ-TORRES et al., 2014). Após a confirmação, foi registrado o número de fragmentos que apresentaram crescimento ou não do fungo, gerando o percentual de reisolamento, calculado a partir do número de fragmentos com crescimento fúngico sobre o total de fragmentos do tratamento.

### 3.2.3. Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk; à homoscedasticidade pelo teste de Hartley; e a independência dos resíduos por análise gráfica. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) através do teste  $F$  ( $P \leq 0,05$ ).

Para o ensaio de reação de genótipos, constatada significância estatística, as médias das variáveis de cada tratamento foram comparadas entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ) para o fator genótipo, e pelo teste exato de Fisher (teste  $t$ ) ( $P \leq 0,05$ ) para o fator infestação, utilizando software estatístico SASM-Agri (CANTERI et al., 2001) e SAS versão 9.4 (SAS, 2016). Complementarmente, os valores das diferentes variáveis foram correlacionados entre si pela análise de correlação de Pearson, utilizando o software SAS v. 9.4 (SAS, 2016).

Os dados resultantes das atividades enzimáticas foram comparados entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ) e plotados em *heatmap*, indicando aumento ou redução da atividade enzimática em plantas infestadas em relação ao controle de cada genótipo. Para comparação entre os genótipos, os dados foram transformados em  $\log_{10} = (\text{controle} - \text{tratamento})$  e plotados em gráficos de barras. Complementarmente, os valores das atividades enzimáticas foram correlacionados com o fator de reprodução (FR) de *M. xenoplax* pela análise de correlação de Pearson, utilizando o software SAS versão 9.4 (SAS, 2016).

Quanto ao ensaio de interação, constatada significância estatística, as médias das variáveis foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ), para os fatores genótipo e interação, utilizando software estatístico SAS versão 9.4. Para as variáveis área necrótica, escurecimento vascular e reisolamento, as médias de cada tratamento foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ), utilizando o software estatístico SAS versão 9.4 (SAS, 2016) e plotadas em gráfico de barras.

## 3.3. Resultados e Discussão

### 3.3.1. Reação de genótipos de videira a *Mesocriconea xenoplax*

Houve grande variação nos níveis de resistência e suscetibilidade entre os genótipos à *M. xenoplax* ( $P < 0,012$ ), conforme Tabela 10. Quatro porta-enxertos se



comportaram como resistentes ao nematoide-anelado, com fatores de reprodução entre 0,08 e 0,15, a saber: 1111- 21, VR 043-43, IBCA125 e 548-44. As três cultivares copa, Bordô, Niagara e Chardonnay, comportaram-se como suscetíveis, assim como os demais porta-enxertos. Para os genótipos suscetíveis, o FR variou de 2,05 a 118,08. Os elevados valores de FR para os porta-enxertos Paulsen 1103 e IAC313 atestam para a viabilidade do inóculo e condições em que o estudo foi conduzido.

**Tabela 5.** Populações finais (PF) e fatores de reprodução (FR) de *M. xenoplax*, e, reação de genótipos de videira ao nematoide, sob condições de casa de vegetação.

Genótipo	População final no solo	FR	Reação <sup>2/</sup>
Paulsen 1103	21.867,09 e <sup>1/</sup>	21,87 e	S
IAC 313 Tropical	95.500,43 b	95,50 b	S
Salt Creek	20.336,10 e	20,34 e	S
Gravesac	6.480,85 f	6,48 f	S
VR043-43	106,98 h	0,11 h	R
IBCA125	151,20 h	0,15 h	R
548-44	154,24 h	0,15 h	R
1111-21	84,73 h	0,08 h	R
Kober 5BB	3.827,67 g	3,83 g	S
R99	2.047,36 g	2,05 g	S
Harmony	2.574,05 g	2,57 g	S
Bordô	56,876,84 c	56,88 c	S
Chardonnay	118.077,00 a	118,08 a	S
Niagara Rosada	34.386,28 d	34,39 d	S
CV (%)	24,59	24,61	-

<sup>1/</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott- Knott ( $p \leq 0,05$ ). <sup>2/</sup>Reação de resistência/ suscetibilidade, segundo Oostenbrink (1966). S: suscetível, R: resistente e I: imune.

Na cultivar copa Chardonnay (*Vitis vinifera* L.) o nematoide-anelado apresentou o mais elevado fator de reprodução (FR), reforçando a importância da utilização de porta-enxertos resistentes a fitonematoides. Semelhantemente, entre os porta-enxertos, IAC 313 Tropical mostrou-se o mais suscetível ao nematoide-anelado.

Quanto as variáveis listadas na Tabela 11, constatou-se interação significativa entre os genótipos e a infestação com *M. xenoplax* para a massa fresca da parte aérea (MFPA) ( $P < 0,0001$ ) e de raízes (MFRA) ( $P < 0,0001$ ). As maiores reduções de MFPA foram observadas no porta-enxerto Harmony (66,7%) e na cultivar copa Chardonnay (62,5%). O parasitismo de *M. xenoplax* não interferiu na MFPA dos porta-enxertos VR 043-43, 548-44, Gravesac, IBCA-125 e Paulsen 1103.

**Tabela 6.** Massa fresca da parte aérea e de raízes de genótipos de videira cultivados em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com *M. xenoplax*, sob condições de casa de vegetação.

Genótipo	MFPA (g)		MFRA (g)	
	-N	+N	-N	+N
Paulsen 1103	45,27 c <sup>1/</sup>	41,82 c	39,87 c	38,32 b
IAC 313 Tropical	66,77 a*	50,10 b	34,41 d	30,13 c
Salt Creek	67,82 a*	52,88 b	40,93 c	38,50 b
Gravesac	49,16 c	45,45 c	36,00 d	33,47 c
VR043-43	59,45 b	58,95 a	45,23 b	41,47 b
IBCA125	60,47 b	50,52 b	50,40 a	48,03 a
548-44	68,30 a	62,53 a	54,65 a	50,40 a
1111-21	70,55 a*	49,97 b	34,98 d*	19,13 e
Kober 5BB	59,65 b*	43,34 c	42,68 b*	19,18 e
R99	57,44 b*	33,15 d	33,14 d	26,60 d
Harmony	39,98 d*	13,30 f	22,32 e*	15,47 e
Bordô	54,17 b*	32,02 d	39,30 c*	26,17 d
Chardonnay	45,48 c*	17,05 f	32,22 d*	16,73 e
Niagara Rosada	38,60 d*	24,96 e	22,62 e*	12,62 f
CV (%)	9,21	12,70	24,87	27,64

**MFPA:** massa fresca da parte aérea; **MFRA:** massa fresca de raízes. <sup>1/</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) comparando os genótipos. Médias seguidas por (\*) na linha diferem entre si pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando plantas cultivadas em solo infestado (+N) ou não infestado (-N).

Em relação a MFRA, 'Chardonnay', '1111-21' e 'Niagara Rosada' foram significativamente afetadas pelo parasitismo de *M. xenoplax*, com reduções de 48,1, 45,3 e 44,2%, respectivamente. Não foram observadas diferenças entre a MFRA de

'Paulsen 1103', 'IAC313', 'Salt Creek', 'Gravesac', 'VR 043-43', '548-44', 'IBCA-125' e R99, comparando plantas livres de nematoides e plantas cultivadas em solo infestado.

Quanto aos teores de pigmentos fotossintéticos, foi constatada interação significativa entre os fatores genótipos e a infestação com *M. xenoplax* para clorofila total (CFL) ( $P < 0,0001$ ) e carotenoides (CRT) ( $P < 0,0001$ ) (Tabela 12). Na presença do nematoide, 'Chardonnay' e 'IAC 313 Tropical' apresentaram aumento dos teores de CRT de 30,7 e 25,0%, respectivamente. Em plantas infestadas, as maiores reduções dos teores CFL foram observadas em 'Kober 5BB' (38,3%) e 'Harmony' (22,5%).

**Tabela 7.** Teores de clorofila total e carotenoides em genótipos de videira cultivados em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com *M. xenoplax*.

Genótipo	CLF (mg/g massa fresca)		CRT (mg/g massa fresca)	
	-N	+N	-N	+N
Paulsen 1103	1,34 c <sup>1/</sup>	1,28 c	0,12 c	0,12 b
IAC 313 Tropical	1,18 e*	1,39 b	0,09 d*	0,13 b
Salt Creek	1,25 d*	1,06 e	0,15 b	0,12 b
Gravesac	1,37 c	1,29 c	0,14 b	0,14 a
VR043-43	1,25 d*	1,05 e	0,14 b	0,13 b
IBCA125	1,37 c*	1,13 d	0,16 b	0,16 a
548-44	1,32 c	1,18 d	0,14 b	0,13 b
1111-21	1,38 c*	1,15 d	0,15 b*	0,11 c
Kober 5BB	1,88 a*	1,16 d	0,14 b*	0,11 c
R99	1,53 b*	1,22 c	0,15 b	0,15 a
Harmony	1,38 c*	1,07 e	0,15 b*	0,11 c
Bordô	1,22 d*	1,06 e	0,14 b*	0,10 c
Chardonnay	1,20 d*	1,47 a	0,12 c*	0,16 a
Niagara Rosada	1,88 a*	1,53 a	0,19 a*	0,16 a
CV (%)	10,23	10,04	9,60	10,84

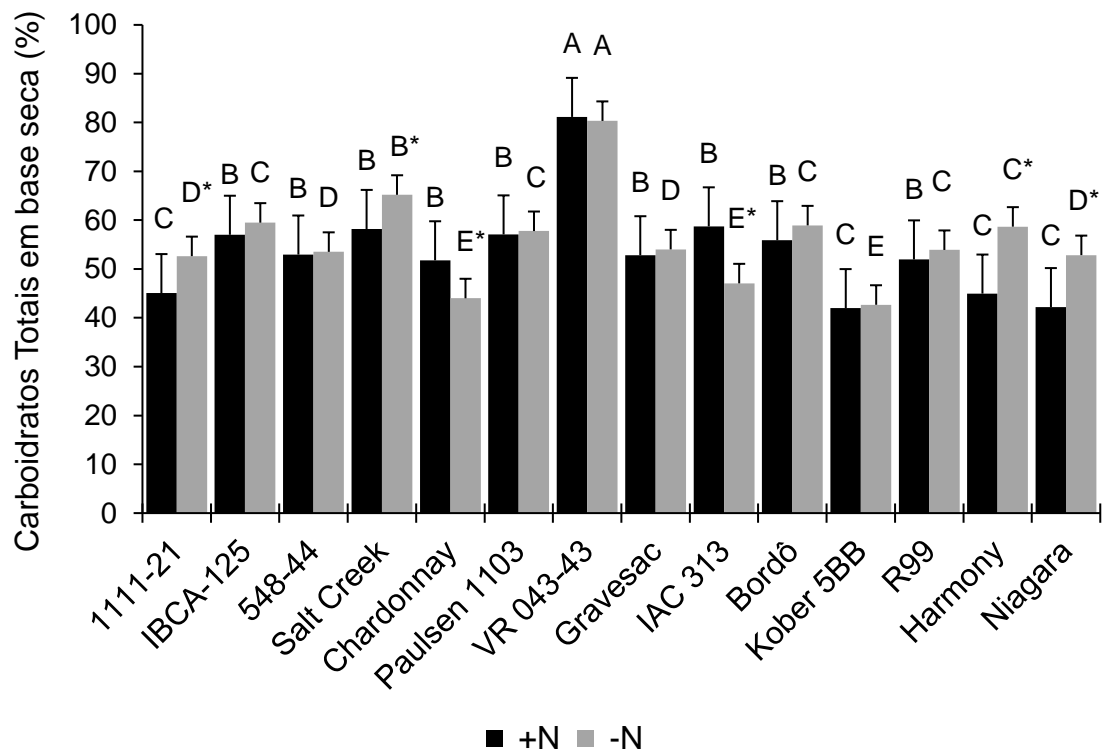
**CLF:** teores de clorofila total; **CRT:** teores de carotenoides. <sup>1/</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) comparando os diferentes genótipos. Médias seguidas por (\*) na linha diferem entre si pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando plantas cultivadas em solo infestado (+N) ou não infestado (-N).

Por outro lado, o parasitismo do nematoide-anelado não afetou os teores de CFL dos genótipos Paulsen 1103, Gravesac e 548-44. Na presença do nematoide, a cultivar copa Chardonnay e o porta-enxerto IAC 313 Tropical apresentaram aumento dos teores de CFL de 22,5 e 17,8%, respectivamente. Para os teores de CRT, as maiores reduções foram observadas na cultivar copa Bordô (28,6%) e no porta-enxerto Harmony (26,7%).

Foram observadas diferenças significativas nos teores de carboidratos totais (CHT) nos porta-enxertos 1111-21, Salt Creek, IAC 313 Tropical e Harmony e nas cultivares copa Chardonnay e Niagara, comparando plantas sob infestação e não infestadas (Figura 8). Para estes genótipos as reduções variaram de 14,4 a 30,7%, na presença de *M. xenoplax*, porém, a cultivar copa Chardonnay e o porta-enxerto IAC 313 Tropical apresentaram aumento nos teores de carboidratos totais de 17,7 e 24,8%, respectivamente. Comparando os genótipos, o porta-enxerto VR 043-43 apresentou os maiores teores de CHT tanto em plantas cultivadas em solo infestado, quanto naquelas mantidas livres do nematoide.

Análogo ao que foi observado para as demais variáveis de desenvolvimento, o porta-enxerto 1111-21 apresentou redução nos teores de CHT (14,4%) na presença de *M. xenoplax*, reforçando a intolerância deste genótipo ao referido nematoide, nas condições do estudo. Os teores de CHT dos demais porta-enxertos que se comportaram como resistentes não foram alterados pelo parasitismo do nematoide-anelado. Adicionalmente, Bordô foi a única cultivar copa que não teve os teores de CHT alterados pelo parasitismo de *M. xenoplax*.

Na Tabela 13 estão apresentados os coeficientes de correlação de Pearson, independentemente do genótipo, os quais permitem observar melhor o efeito negativo de *M. xenoplax* sobre o desenvolvimento das plantas. O fator de reprodução (FR) correlacionou-se negativamente com todas as variáveis de desenvolvimento vegetativo. Além disso, foi possível constatar correlação negativa entre as variáveis de desenvolvimento de plantas sob infestação e de plantas livres do patógeno, como por exemplo entre a massa fresca de raiz em plantas sob infestação e o teor de CHT em plantas não infestadas ( $r = -0,95$ ;  $P = 0,0096$ ).



**Figura 8.** Teores de carboidratos totais em base seca em genótipos de videira cultivados em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com *M. xenoplax*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) comparando os genótipos. Médias seguidas por um asterisco (\*) diferem entre si pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando plantas em solo infestado e não infestado (+N e -N). Barras verticais representam a média  $\pm$  o desvio padrão.

A baixa correlação negativa entre as variáveis FR e teor de CHT ( $r = -0,43$ ;  $P = 0,0073$ ) deve-se, possivelmente, ao comportamento dos genótipos Chardonnay e IAC 313 Tropical, os quais apresentaram aumento dos teores de CHT quando a população do nematoide foi elevada. Isto pode ser confirmado observando os coeficientes de correlação para genótipos que apresentaram diferentes FR, apresentados na Tabela 14. Analisando estas correlações, observa-se que o elevado fator de reprodução de IAC 313 Tropical e Chardonnay resultou em forte correlação negativa entre teor de CHT e massa fresca de raízes ( $r = -0,92$  e  $-0,94$ ;  $P = 0,0072$  e  $0,0490$ ). Nestes genótipos, também foi observada correlação negativa entre os teores de clorofila e carotenoides com as massas de parte aérea e de raiz.

**Tabela 8.** Coeficientes de correlação de Pearson para as variáveis analisadas de genótipos de videira cultivados em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com *Mesocriconea xenoplax*, sob condições de casa de vegetação.

Variável	Infestado (+N)						Não-infestado (-N)				
	AST	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT
CHT	1,00	0,80 <sup>1/</sup>	0,92	0,58	0,53	-0,43	-0,54	-0,70	-0,49	-0,87	-0,42
MFPA		1,00	0,73	0,61	0,81	-0,71	-0,51	-0,72	-0,61	-0,23	-0,68
MFRA			1,00	0,68	0,96	-0,76	-0,95	-0,63	-0,78	-0,18	-0,73
CLF				1,00	0,65	-0,93	-0,45	-0,28	-0,41	-0,82	-0,43
CRT					1,00	-0,62	-0,79	-0,51	-0,52	-0,56	-0,64
FR						1,00	-	-	-	-	-
CHT							1,00	0,72	0,65	0,88	0,74
MFPA								1,00	0,83	0,62	0,44
MFRA									1,00	0,71	0,36
CLF										1,00	0,60
CRT											1,00

<sup>1/</sup>Coeficientes de correlação de Pearson. Correlações significativas positivas (roxo) e negativas (amarelo) variam na intensidade da cor de acordo com o coeficiente de correlação (0,0≤0,3 claro, 0,31≤0,65 intermediário e 0,66≤1,0 intenso). Quadrantes em branco representam correlações não significativas. **CHT**: Carboidratos totais; **MFPA**: Massa fresca da parte aérea; **MFRA**: Massa fresca da raiz; **CLF**: Clorofila total; **CRT**: Carotenoides; **FR**: Fator de reprodução do nematoide. Valores de *P* podem ser consultados em Anexos.

**Tabela 9.** Coeficientes de correlação de Pearson para as variáveis analisadas de quatro genótipos de videira cultivados em solo infestado com *Mesocriconea xenoplax*, sob condições de casa de vegetação.

Variável	IAC 313 Tropical						1111-21					
	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR
CHT	1,00	-0,73 <sup>1/</sup>	-0,92	0,92	0,89	0,79	1,00	0,66	0,88	0,73	0,85	-0,78
MFPA		1,00	0,70	-0,77	-0,75	-0,74		1,00	0,95	0,99	0,69	-0,72
MFRA			1,00	-0,90	-0,71	-0,67			1,00	0,77	0,78	-0,69
CLF				1,00	0,45	0,73				1,00	0,65	-0,99
CRT					1,00	0,75					1,00	-0,95
FR						1,00						1,00

Variável	Chardonnay						Salt Creek					
	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR
CHT	1,00	-0,74	-0,94	0,93	0,76	0,92	1,00	0,60	0,61	0,58	0,78	-0,93
MFPA		1,00	0,97	-0,65	-0,68	-0,82		1,00	0,58	0,67	0,68	-0,91
MFRA			1,00	-0,55	-0,50	-0,90			1,00	0,58	0,88	-0,74
CLF				1,00	0,63	0,95				1,00	0,81	-0,65
CRT					1,00	0,72					1,00	-0,62
FR						1,00						1,00

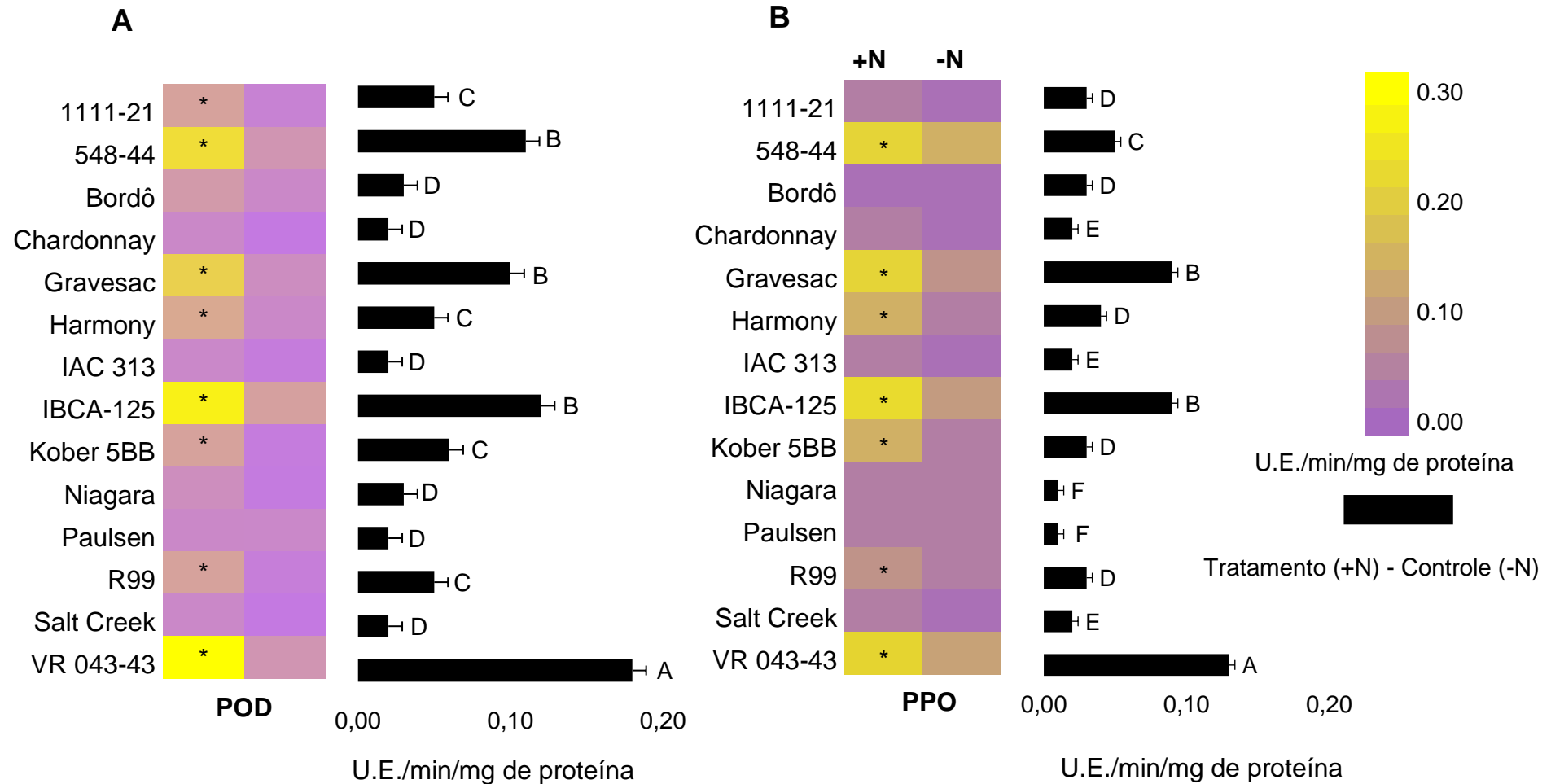
<sup>1/</sup>Coeficientes de correlação de Pearson. Correlações significativas positivas (roxo) e negativas (amarelo) variam na intensidade da cor de acordo com o coeficiente de correlação ( $0,0 \leq 0,3$  claro,  $0,31 \leq 0,65$  intermediário e  $0,66 \leq 1,0$  intenso). **CHT**: Carboidratos totais; **MFPA**: Massa fresca da parte aérea; **MFRA**: Massa fresca da raiz; **CLF**: Clorofila total; **CRT**: Carotenoides; **FR**: Fator de reprodução do nematoide. Valores de *P* podem ser consultados em Anexos.

Nas figuras 9A e 9B estão representadas as atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO). Para as atividades destas duas enzimas foi constatada interação significativa entre os genótipos e a infestação com *M. xenoplax* ( $P < 0,0001$ ). Houve diferenças significativas entre a atividade enzimática da POD nos porta-enxertos 1111-21, 548-44, Gravesac, Harmony, IBCA-125, Kober 5BB, R99 e VR 043-43, comparando plantas sob infestação e plantas livres de nematoides, onde as maiores atividades desta enzima foram observadas na presença do nematoide. No entanto, não foram observadas alterações na atividade desta enzima nas cultivares copa Chardonnay, Bordô e Niagara. A maior atividade da POD em função do parasitismo de *M. xenoplax* foi observada no porta-enxerto VR 043-43, seguida por IBCA-125, 548-44 e Gravesac, os quais apresentavam atividade basal desta enzima na ausência do nematoide comparativamente aos demais genótipos.

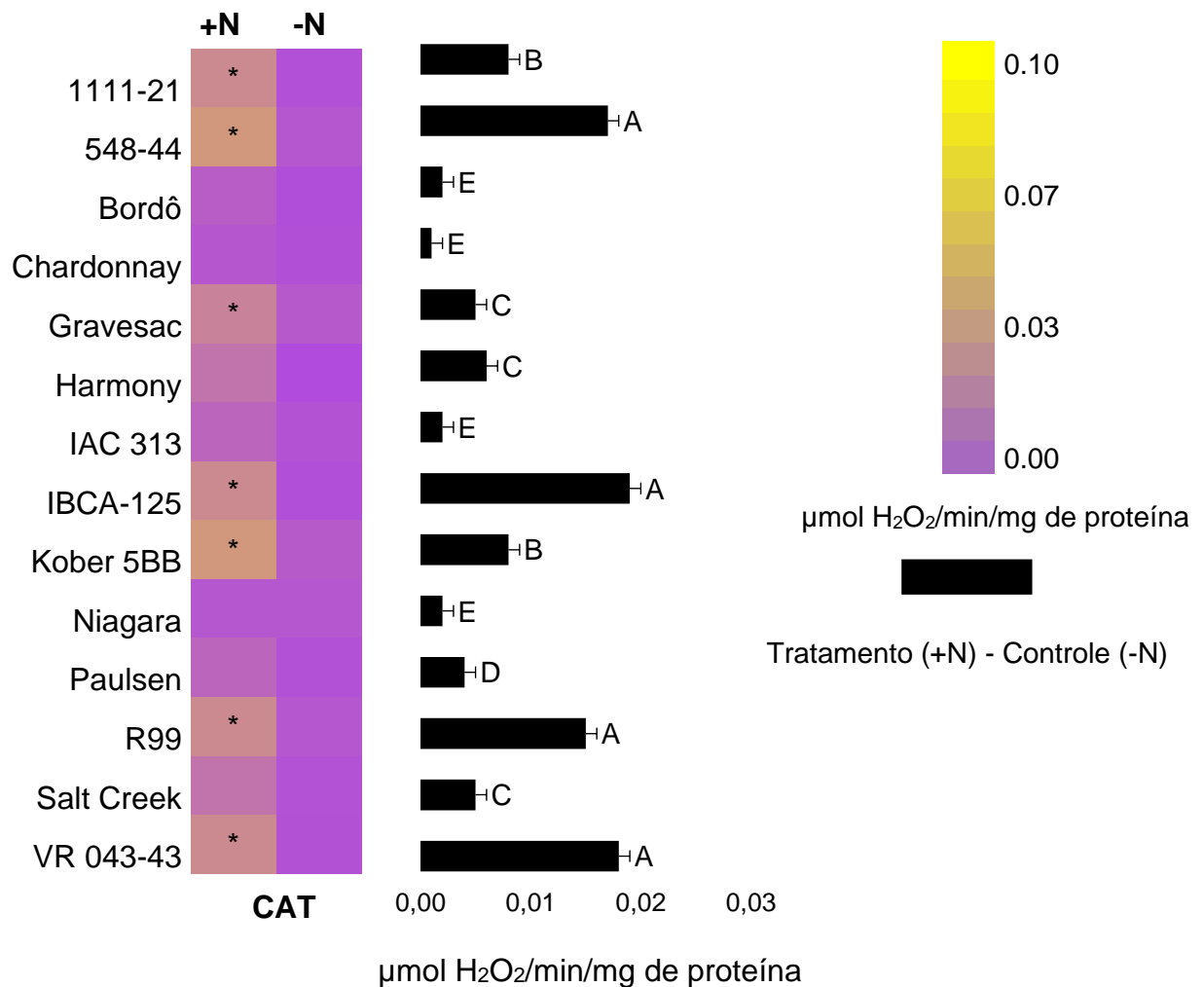
Similar à POD, também foram observadas alterações na atividade da PPO em função do parasitismo de *M. xenoplax*, onde os porta enxertos 548-44, Gravesac, Harmony, IBCA-125, Kober 5BB, R99 e VR 043-43 apresentaram aumento da atividade desta enzima na presença do nematoide (Figura 9B). Nestes mesmos genótipos foram observadas atividades basais, ou seja, atividade em plantas não parasitadas pelo referido nematoide. O porta-enxerto VR 043-43 apresentou o maior aumento da atividade enzimática comparando plantas parasitadas e não parasitadas, seguida pelos porta-enxertos IBCA-125 e Gravesac.

Quanto a atividade da enzima catalase (CAT), apesar da baixa atividade em todos os genótipos (Figura 10), também foi constatada interação significativa entre os fatores ( $P < 0,0001$ ). Entre as plantas sob infestação ou não com *M. xenoplax*, os porta-enxertos, 1111-21, 548-44, Gravesac, IBCA-125, Kober 5BB, R99 e VR 043-43 apresentaram aumento a atividade da CAT em comparação com plantas não parasitadas, por outro lado, entre as cultivares copa não foi constatado aumento da a atividade da enzima em questão devido ao parasitismo de *M. xenoplax*. Contrariamente ao que foi observado para POD e PPO, não foi observada atividade basal em nenhum dos genótipos estudados. Os maiores aumentos na atividade desta enzima foram observados nos porta-enxertos VR 043-43, IBCA-125, 548-44 e R99.





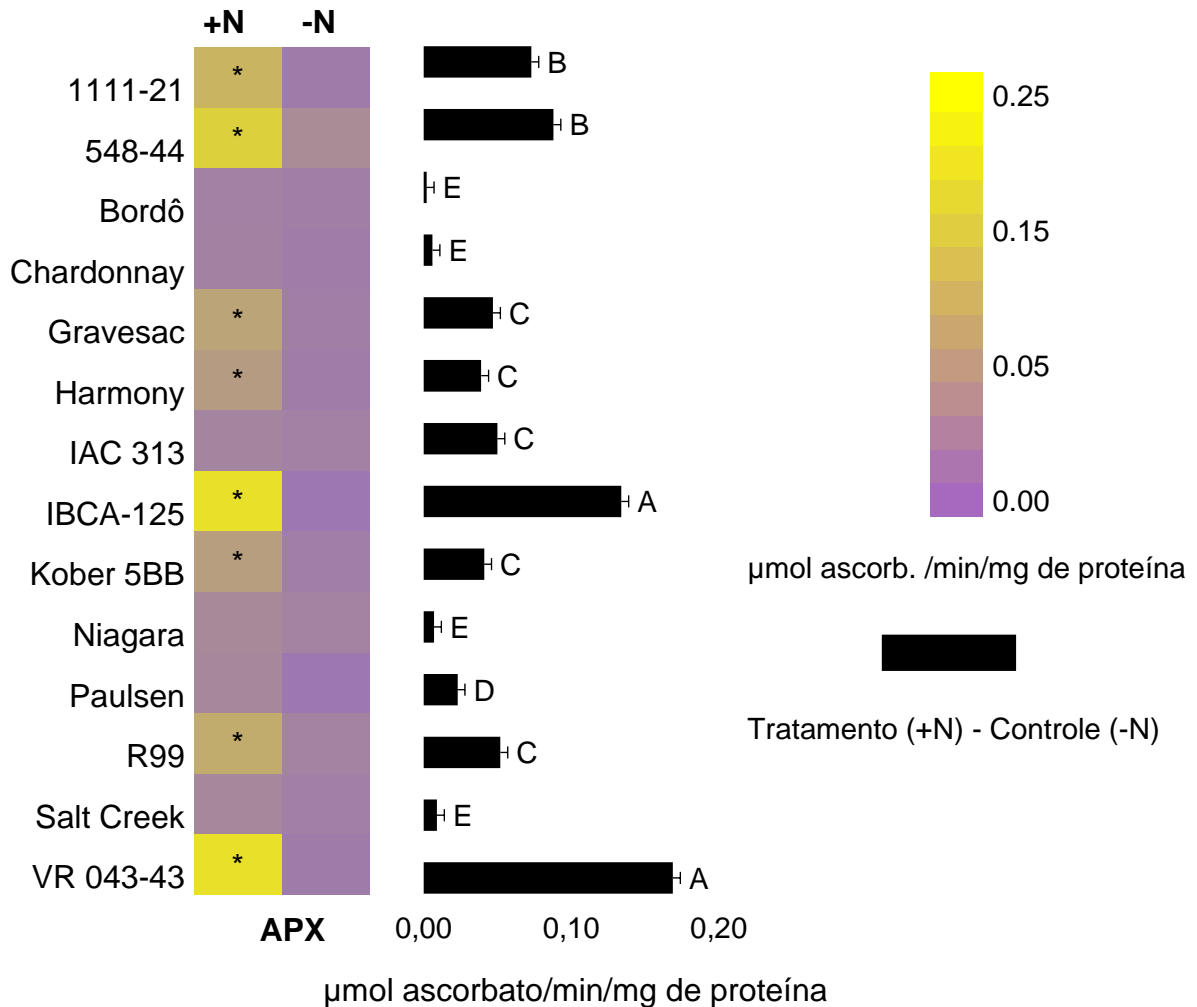
**Figura 9.** (A) *Heatmap* da atividade da peroxidase (POD) e (B) polifenoloxidase (PPO) em folhas de videiras inoculadas (+N) e não inoculadas (-N) com *M. xenoplax*. Variações em roxo e amarelo indicam aumento ou redução da atividade enzimática. Barras horizontais representam a atividade da POD e PPO em folhas de videiras inoculadas com *M. xenoplax* em relação ao controle. O símbolo (\*) representa diferença significativa pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) entre plantas cultivadas em +N e -N. Médias seguidas por mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) comparando os diferentes genótipos.



**Figura 10.** Heatmap da atividade da catalase (CAT) em folhas de videiras cultivadas em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com *M. xenoplax*. Variações em roxo e amarelo indicam aumento ou redução da atividade enzimática. Barras horizontais representam a atividade da CAT em plantas cultivadas em solo infestado com *M. xenoplax* em relação ao controle. O símbolo (\*) representa diferença significativa pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) entre plantas cultivadas em +N e -N. Médias seguidas por mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) comparando os diferentes genótipos.

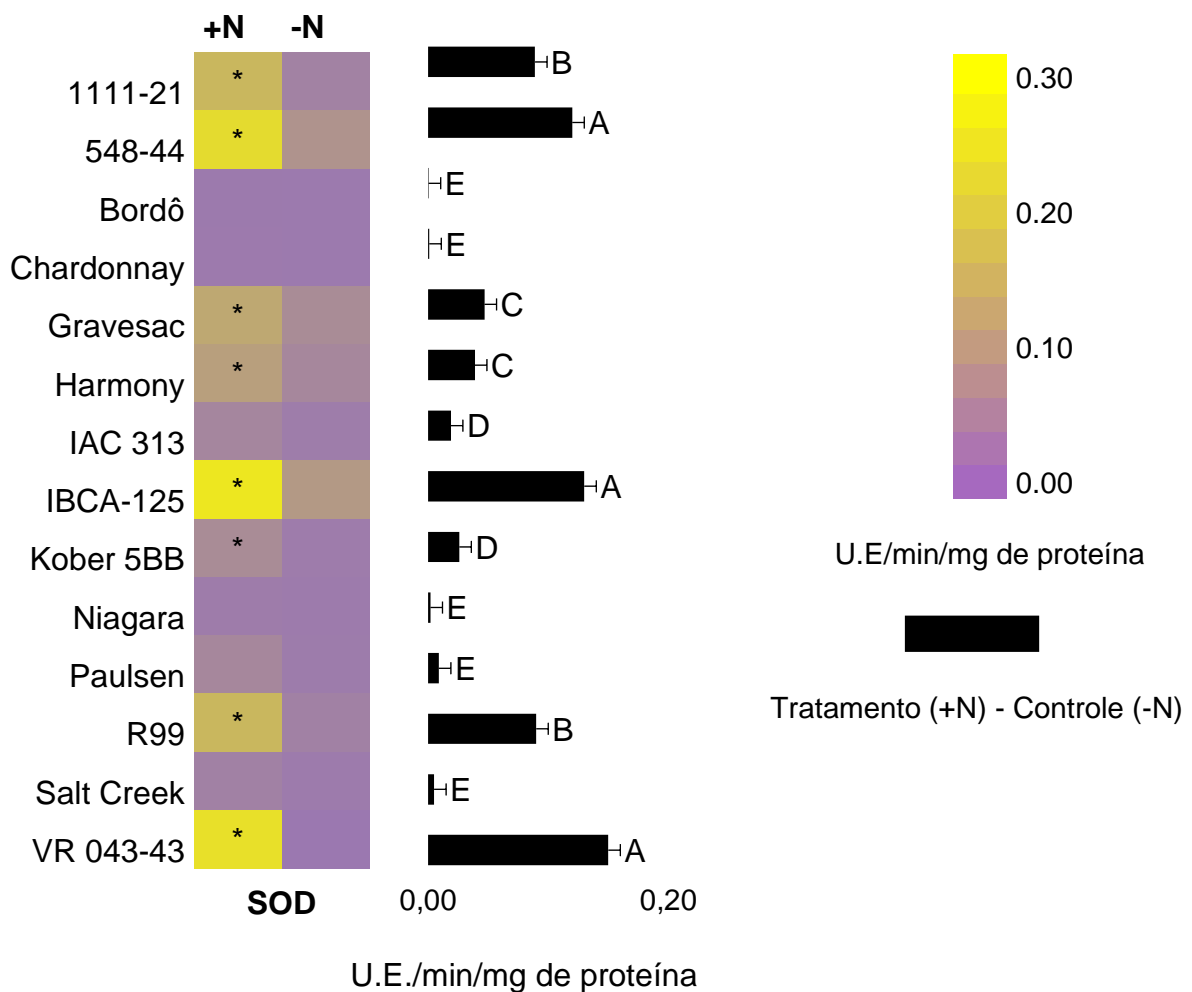
Alterações na atividade da ascorbato peroxidase (APX) foram observadas após a constatação de interação significativa entre os genótipos e a infestação com *M. xenoplax* ( $P = 0,0144$ ) (Figura 11). Para o fator infestação, aumento na atividade da APX foi observado nos porta-enxertos 1111-21, 548-44, Gravesac, Harmony, IBCA-125, Kober 5BB, R99 e VR 043-43. Similar à atividade da POD e PPO, os porta-

enxertos VR 043-43 e IBCA-125 apresentaram os maiores aumento da atividade em função do parasitismo de *M. xenoplax*. Apenas o porta-enxerto 548-44 apresentou discreta atividade basal na ausência do nematoide. Comparando os genótipos, não foi observada atividade da APX em Bordô, tanto na presença, quanto na ausência do nematoide-anelado.



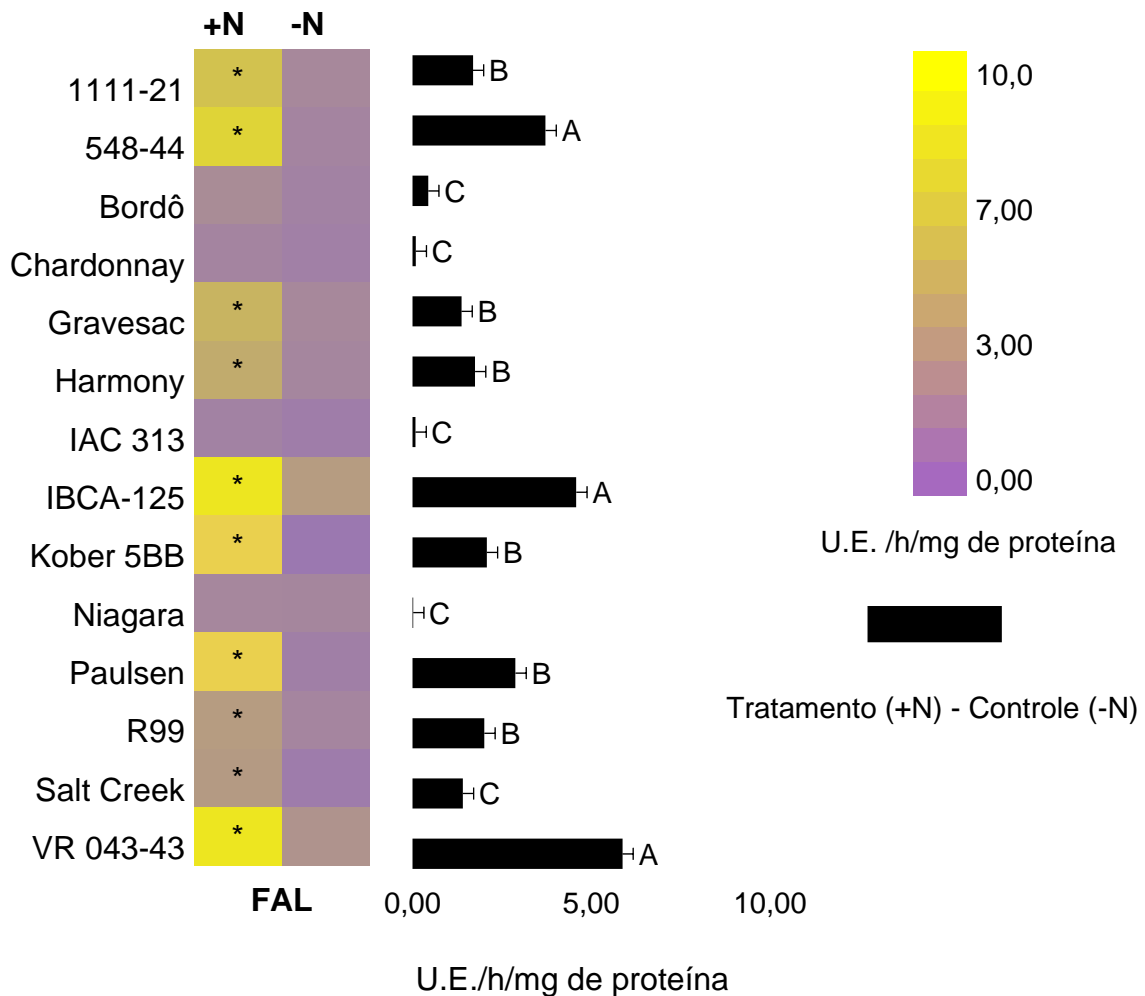
**Figura 11.** Heatmap da atividade da ascorbato peroxidase (APX) em folhas de videiras cultivadas em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com *M. xenoplax*. Variações em roxo e amarelo indicam aumento ou redução da atividade enzimática. Barras verticais representam a atividade da APX. Barras horizontais representam a atividade da POD e PPO em folhas de videiras inoculadas com *M. xenoplax* em relação ao controle. O símbolo (\*) representa diferença significativa pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) entre plantas cultivadas em +N e -N. Médias seguidas por mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) comparando os diferentes genótipos.

O parasitismo do nematoide-anelado resultou em alterações na atividade da superóxido dismutase (SOD) (Figura 12), onde foi constatada interação significativa entre os fatores ( $P = 0,035$ ). Pela análise dentro do fator infestação verificou-se aumento da atividade em 1111-21, 548-44, Gravesac, Harmony, IBCA-125, Kober 5BB, R99 e VR 043-43. Para o fator genótipo, os maiores aumentos da atividade foram observados em VR 043-43, IBCA-125 e 548-44.



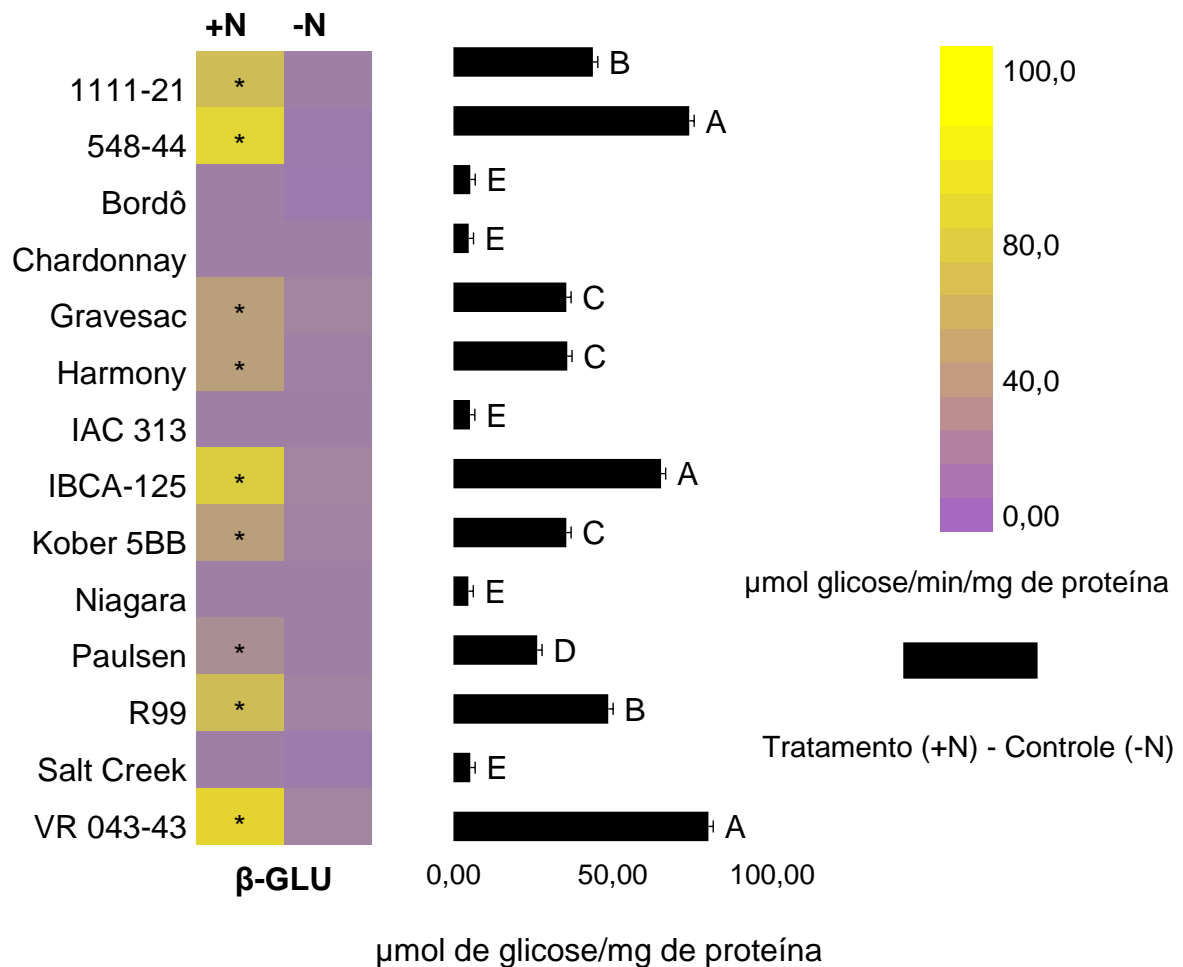
**Figura 12.** Heatmap da atividade da superóxido dismutase (SOD) em folhas de videiras cultivadas em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com *M. xenoplax*. Variações em roxo e amarelo indicam aumento ou redução da atividade enzimática. Barras horizontais representam a atividade da SOD em plantas cultivadas em solo infestado com *M. xenoplax* em relação ao controle. O símbolo (\*) representa diferença significativa pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) entre plantas cultivadas em +N e -N. Médias seguidas por mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) comparando os diferentes genótipos.

Interação significativa entre os fatores foi constatada para a atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) ( $P = 0,0218$ ) (Figura 13). Esta enzima mostrou-se bastante sensível ao parasitismo de *M. xenoplax*, onde apenas quatro genótipos suscetíveis (Bordô, Chardonnay, IAC313 e Niagara) não apresentaram alterações na atividade. Os maiores aumentos de atividade foram observados em VR 043-43, IBCA-125 e 548-44.



**Figura 13.** Heatmap da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) em folhas de videiras cultivadas em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com *M. xenoplax*. Variações em roxo e amarelo indicam aumento ou redução da atividade. Barras horizontais representam a atividade em plantas cultivadas em solo infestado com *M. xenoplax* em relação ao controle. O símbolo (\*) representa diferença significativa pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) entre plantas cultivadas em +N e -N. Médias seguidas por mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) comparando os diferentes genótipos.

Para a enzima  $\beta$ -1,3 glucanase ( $\beta$ -GLU) (Figura 14) também foi constatada interação significativa entre os fatores ( $P < 0,0028$ ) e, dentro do fator infestação, observou-se aumento da atividade desta enzima em nove porta-enxertos (1111-21, 548-44, Gravesac, Harmony, IBCA-125, Kober 5BB, Paulsen 1103, R99 e VR 043-43). Na ausência de *M. xenoplax*, não foi observada atividade basal desta enzima.



**Figura 14.** Heatmap da atividade da  $\beta$ -1,3 glucanase ( $\beta$ -GLU) em folhas de videiras inoculadas (+N) e não inoculadas (-N) com *M. xenoplax*. Variações em roxo e amarelo indicam aumento ou redução da atividade enzimática. Barras horizontais representam a atividade em plantas cultivadas em solo infestado com *M. xenoplax* em relação ao controle. O símbolo (\*) representa diferença significativa pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) entre plantas cultivadas em +N e -N. Médias seguidas por mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) comparando os diferentes genótipos.

Ainda em relação a atividade da  $\beta$ -GLU, as maiores atividades em função do parasitismo de *M. xenoplax* foram observadas nos porta-enxertos 548-44, VR 043-43 e IBCA-125, seguidos por R99 e 1111-21, cujos valores de FR foram baixos, variando de 0,11 e 2,05.

Pela análise de correlação de Pearson (Tabela 15) foi possível observar correlação negativa entre a atividade das enzimas estudadas e o FR de *M. xenoplax*. Por outro lado, correlações positivas foram observadas entre a atividade das diferentes enzimas. Os coeficientes de correlação mais consistentes entre a atividade enzimática e o FR foram observados para as enzimas FAL e  $\beta$ -GLU ( $r = -0,90$  e  $-0,82$ ;  $P = <0,0001$  e  $<0,0001$ ). Elevados coeficientes de correlação positivos foram observados entre a atividade específica de algumas enzimas, como por exemplo entre a FAL e CAT ( $r = 0,87$ ;  $P = 0,005$ ) e FAL e SOD ( $r = 0,85$ ;  $P = <0,0001$ ).

**Tabela 10.** Coeficientes de correlação de Pearson para a atividade enzimática e o fator de reprodução de *Mesocriconeuma xenoplax* em genótipos de videira, sob condições de casa de vegetação.

	Variáveis							
	POD	PPO	CAT	APX	SOD	FAL	$\beta$ -GLU	FR
POD	1,00	0,65 <sup>1/</sup>	0,46	0,48	0,59	0,75	0,77	-0,72
PPO		1,00	0,35	0,43	0,68	0,63	0,63	-0,71
CAT			1,00	0,73	0,77	0,87	0,67	-0,67
APX				1,00	0,71	0,76	0,68	-0,74
SOD					1,00	0,85	0,61	-0,75
FAL						1,00	0,60	-0,90
$\beta$ -GLU							1,00	-0,82
FR								1,00

<sup>1/</sup>Coeficientes de correlação de Pearson. Correlações significativas positivas (roxo) e negativas (amarelo) variam na intensidade da cor de acordo com o coeficiente de correlação ( $0,0 \leq 0,3$  claro,  $0,31 \leq 0,65$  intermediário e  $0,66 \leq 1,0$  intenso). **POD**: Peroxidase; **PPO**: Polifenoloxidase; **CAT**: Catalase; **APX**: Ascorbato peroxidase; **SOD**: Superóxido dismutase; **FAL**: Fenilalanina amônia-liase;  **$\beta$ -GLU**:  $\beta$ -1,3-glucanase; **FR**: Fator de reprodução do nematoide. Valores de  $P$  podem ser consultados em Anexos.

Quanto à suscetibilidade dos porta-enxertos à *M. xenoplax*, IAC 313 Tropical, comportou-se altamente suscetível. Adaptado a quase todas as regiões do Brasil, devido as suas características tropicais, vigor, enraizamento e resistência ao míldio e à filoxera; o uso deste material deve ser criteriosamente planejado, pois o portfólio de apresentação deste genótipo o caracteriza com alta resistência a nematoides, sem citar a quais espécies ou gêneros (EMBRAPA, 2014). Portanto, tal informação deve ser reavaliada, uma vez que essa premissa é válida apenas para o gênero *Meloidogyne* (SOMAVILLA; 2009; SOMAVILLA et al., 2011).

As reações de resistência dos genótipos de videira observadas neste estudo estão de acordo com Divers (2018), exceto para o porta-enxerto R99, o qual comportou-se como suscetível (FR = 2,05) comparativamente ao referido trabalho, cujo FR foi menor que 1. De forma geral, os valores de FR aqui relatados são significativamente maiores do que o relatados por Kuhn (2015) e Divers (2018), provavelmente associados a diferenças na agressividade e origem das populações em ambos os estudos. Neste estudo, foi utilizada uma população procedente de vinhedos em declínio, ao contrário de ambos os estudos citados, onde foram utilizadas populações procedentes de pomares de pessegueiro com sintomas de morte precoce [Peach Tree Short Life (PTSL)]. Pinkerton et al. (2005) relataram diferenças nas densidades populacionais e na agressividade de cinco populações de *M. xenoplax* testados nos mesmos porta-enxertos de *Vitis* spp. De Ley et al. (2004) observaram diferenças genéticas e morfológicas em populações de *M. xenoplax* coletadas em duas regiões do estado da Califórnia, as quais também apresentaram diferenças nas taxas de multiplicação quando inoculadas nos mesmos porta-enxertos, sugerindo variabilidade na agressividade, como relatado para *Meloidogyne* spp. (ANWAR, et al. 2000; SOMAVILLA, 2009).

Pinkerton et al. (2005), avaliando a reação de 20 genótipos de videira ao nematoide-anelado, entre eles Kober 5BB, R99, Gravesac, Paulsen 1103 e Chardonnay também verificaram a suscetibilidade destes materiais. Da mesma forma, Kuhn (2015) verificou que o genótipo Paulsen 1103 e as cultivares copa Niagara e Bordô comportaram-se como suscetíveis à *M. xenoplax*, corroborando com as reações observadas no presente estudo.

Apesar de suscetíveis, os porta-enxertos Paulsen 1103 e Gravesac comportaram-se como tolerantes ao nematoide-anelado, não apresentando reduções na massa fresca da parte aérea, do sistema radicular, de pigmentos fotossintéticos ou



do teor de CHT. Não foram observadas reduções do sistema radicular do porta-enxerto Salt Creek, porém este genótipo apresentou reduções nos demais parâmetros vegetativos e nos teores de CHT em função do parasitismo de *M. xenoplax*. Classificado como resistente a *M. xenoplax*, o porta-enxerto 1111-21, apresentou reduções de massa fresca de parte aérea e raiz, de pigmentos fotossintéticos e no teor de CHT, em uma clara indicação de intolerância. Além da resistência, é fundamental que os genótipos apresentem tolerância ao nematoide em questão. Segundo Anwar e McKenry (2002), a tolerância de plantas a nematoides é a capacidade de uma planta de resistir ao parasitismo de sem perdas de crescimento ou produtividade. Entretanto, a tolerância é mais difícil de quantificar do que a resistência, pois é improvável que seja uma característica monogênica. No presente estudo, três genótipos comportaram-se como resistentes e tolerantes a *M. xenoplax*, VR043- 43 548-44 e IBCA-125, tendo potencial para plantio em áreas infestadas.

Pinkerton et al. (2004) e Pinkerton et al. (2005) relataram reduções do sistema radicular acima de 50% em cultivares copa de videira, entre elas Pinot Noir e Chardonnay, classificadas pelos autores como altamente suscetíveis e intolerantes à *M. xenoplax*. Nos referidos estudos, os porta-enxertos Paulsen 1103, Gravesac e R99 também tiveram reduções atribuídas ao parasitismo de *M. xenoplax*, porém menores ( $\approx 25\%$ ). Ao contrário do que foi observado no presente estudo, os autores classificaram Paulsen 1103 como intolerante e Kober 5BB como tolerante. Contudo, a tolerância do hospedeiro a um determinado nematoide pode ser afetada pelo tipo de solo, clima, idade e condições nutricionais da planta (McKENRY; ANNWAR, 2006). Divers (2018) relatou reação de resistência e intolerância para os porta-enxertos R99 e VR 043-43, reforçando a assertiva anterior quando ao comportamento dos genótipos e a sua tolerância ao nematoide-anelado.

As reduções dos teores de clorofila total e carotenoides, ora observadas, indicam que *M. xenoplax* interfere, indiretamente, na biossíntese desses pigmentos, provavelmente devido a espoliação de nutrientes durante sua alimentação nas raízes, principalmente carbono, o qual é componente essencial para biossíntese desses pigmentos. Por outro lado, o aumento dos teores de clorofila total e carotenoides pode estar relacionado ao aumento da demanda por fotossintatos nas raízes de plantas intensamente parasitadas, assim como já relatado em outros patossistemas (KOENNING; BARKER, 1994; ABRÃO; MAZZAFERA, 2001), visto que, nos genótipos onde foi constatado aumento dos teores de pigmentos fotossintéticos, também foi

relatado elevado fator de reprodução do nematoide. Apesar dos baixos teores de carotenoides encontrados em todos os genótipos, mesmo na ausência do nematoide, este pigmento é essencial para a proteção contra os danos causados pela luz e conhecidos como pigmentos acessórios (BLANKERSHIP, 2013). Os carotenoides são constituintes integrais das membranas dos tilacoides e estão associados às proteínas que compõem o aparelho fotossintético (FRANK et al., 1999). A redução dos teores destes pigmentos pode levar a formação de oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), extremamente danoso aos componentes celulares; pois são responsáveis por auxiliar na dissipação da energia luminosa absorvida pelas clorofilas durante a fotoquímica (HOHMANN-MARRIOTT; BLAKERSHIP, 2011).

Em relação aos teores de clorofila total e carotenoides e considerando que a biossíntese de carboidratos no estroma dos cloroplastos está intimamente ligada à absorção de luz pelas clorofilas e carotenoides e à produção de ATP e NADPH nos tilacoides (BLAKERSHIP, 2013), a redução dos teores desses pigmentos levaria a redução da taxa fotossintética e, conseqüentemente, dos teores de CHT nos tecidos.

O aumento dos teores de CHT em Chardonnay e IAC 313 Tropical possivelmente estão relacionados ao elevado parasitismo e à alta densidade populacional de nematoides. Considerando que as raízes atuam como um órgão dreno e as folhas como fontes (HUSSEY; WILLIAMSON, 1998), a espoliação de nutrientes provocada por *M. xenoplax* resulta em alterações nas interações fonte-dreno, intensificando a força do dreno. Dessa forma, a elevada população do nematoide-anelado aumentou a espoliação e, conseqüentemente, a demanda por carboidratos nas raízes. Para compensar esta demanda, ocorre um estímulo semelhante àquele causado pela produção de frutos, ou seja, o aumento da biossíntese de fotossintatos, ativado por processos de sinalização e ligados aos níveis de fotossintatos alocados nos drenos metabólicos, neste caso, as raízes (KOCH, 1996; HAYES; DAVIES; DRY, 2007; DUNFORD, 2013). Schreiner e Pinkerton (2008) demonstraram que o consumo de carboidratos das raízes por *M. xenoplax* é intenso e influencia negativamente na colonização por micorrizas arbusculares, resultando em competição por carboidratos e amido.

As reduções dos teores de CHT observados nos demais genótipos podem ser resultado de um aumento no metabolismo primário em resposta às modificações nos locais de alimentação provocadas pelo nematoide (HUSSEY; MIMS; WESTCOTT, 1992) ou possivelmente ao aumento de metabólitos secundários durante a ativação

das respostas de defesa ao parasitismo, como foi demonstrado em *Plantago lanceolata* L., onde houve um gasto considerável de energia em função dos processos de defesa (WURST et al. 2010). Também é possível que a alimentação do nematoide-anelado tenha aumentado a respiração e a exsudação de compostos, entre eles açúcares (carboidratos), e outros metabólitos que estimularam a atividade microbiana na rizosfera das raízes infestadas, contribuindo para a perda de carboidratos e resultando em alteração na partição de fotossintatos, como observado por Schreiner e Pinkerton (2008) e Wurst et al. (2010).

Schreiner, Zasada e Pinkerton (2012) relataram reduções de até 56% do teor de carboidratos totais nas raízes de videira, além da menor colonização por micorrizas, redução do teor de amido e absorção reduzida de P e K em resposta ao parasitismo de *M. xenoplax*. Adicionalmente, os autores observaram que as reduções dos teores de carboidratos foram maiores do que as reduções de biomassa ou de qualquer nutriente, sugerindo que o nematoide altera a fisiologia das plantas, principalmente pela redução das reservas de carboidratos nas raízes e troncos, necessárias para suportar o crescimento e desenvolvimento. Os resultados deste estudo corroboram os relatos de Schreiner, Pinkerton e Zasada (2012) em genótipos de videira e são similares aos resultados de Olien et al. (1995) e Ferris et al. (2004), os quais demonstraram que o parasitismo de *M. xenoplax* aumenta a suscetibilidade de genótipos de *Prunus* sp. ao cancro bacteriano pela redução dos teores de carboidratos. Nos referidos estudos, os autores demonstraram que o parasitismo de *M. xenoplax* resultou em aumento da partição de carboidratos da parte aérea para a raiz e que os níveis reduzidos de CHT na parte aérea provocou maiores danos e morte de plantas, os quais não foram observados na ausência do nematoide-anelado.

A constatação de um aumento na atividade das enzimas nos tecidos de plantas resistentes e/ou tolerantes, comparando com as plantas suscetíveis, em resposta ao parasitismo de *M. xenoplax*, pode confirmar o envolvimento destas na regulação das interações planta-nematoide. Neste estudo, todos os genótipos que se comportaram como resistentes apresentaram aumento significativo na atividade de algumas enzimas, em plantas parasitadas, assim como genótipos que mostraram algum grau de tolerância ao nematoide.

Embora a resistência de plantas a nematoides tenha sido desenvolvida em várias culturas, em relação ao que é conhecido sobre espécies de nematoides endoparasitas sedentários, relações de resistência e tolerância entre os nematoides

endoparasitas migradores ou ectoparasitas e seus hospedeiros são muito menos documentadas (PENG; MOENS; 2003; HOLBIEN; GRUNDLER; SIDDIQUE, 2016). Uma possível resposta está no próprio hábito de parasitismo desses nematoides. Ectoparasitas migradores, como *M. xenoplax*, inserem o estilete entre as células epidérmicas das raízes do hospedeiro para parasitar uma única célula, ou seja, o nematoide não ingressa no tecido vegetal, alimentando-se externamente a raiz, portanto, as relações parasíticas nesse grupo de nematoides são consideradas pouco especializadas (HUSSEY; MIMS; WESTCOTT, 1992). Por não estabelecerem uma relação prolongada com seus hospedeiros, o principal mecanismo de resistência contra nematoides sedentários, ou seja, o abortamento do tecido nutridor via HR, não é efetivo para *M. xenoplax* (LEE et al., 2017).

Quando submetidas a estresses, sejam bióticos ou abióticos, as células vegetais respondem por meio de uma cascata de sinais, ativada por vias metabólicas, resultando em aumento significativo na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^-$ ) (TORRES; JONES; DANGL, 2006). As EROs desempenham um papel importante na defesa das plantas durante o ataque de patógenos, pois seu acúmulo/detoxificação pode contribuir para a tolerância ou resistência a agentes estressantes (DAS et al., 2008). As EROs são detoxificadas por enzimas antioxidantes como, catalase, peroxidase, superóxido dismutase e ascorbato peroxidase (MITTLER, 2002). A produção e o acúmulo de EROs leva à reação de hipersensibilidade (HR) nas células vegetais e, apesar deste mecanismo ser eficaz apenas contra espécies de fitonematoides endoparasitas, está associado ao início da resistência sistêmica adquirida (SAR) em tecidos distantes do sítio de alimentação (GOVERSE; SMANT, 2014). Adicionalmente, o aumento da atividade da CAT, POD, SOD e APX favorece o fortalecimento celular, catalisando a lignificação e suberização dos tecidos vegetais numa tentativa de dificultar a inserção do estilete de fitonematoides (WUYTS et al., 2007; DHAKSHINAMOORTHY et al., 2014).

Seguindo a mesma linha de raciocínio, as deposições de lignina, um polímero de fenol derivado do metabolismo de fenilpropanóides (LIU; LUO; ZHENG, 2018), ocorrem após a formação do apressório de fungos ou inserção do estilete de fitonematoides (LO; NICHOLSON, 2008). A composição da lignina induzida pela infecção e/ou penetração, frequentemente difere da lignina de tecidos saudáveis e a acumulação rápida de seus precursores é acompanhada por um aumento das enzimas FAL, CAT, APX, e POD e de  $H_2O_2$  (DZHAVAKHIYA; OZERETSKOVSKAYA;

ZINOVYEVA, 2007). Analisando os genótipos que se comportaram como resistentes e/ou tolerantes a *M. xenoplax*, fica pressuposto que o aumento das atividades destas enzimas refletiu em uma maior lignificação dos tecidos radiculares, dificultando a inserção do estilete e a alimentação do referido nematoide e resultando em menor FR. Segundo Rahaman, Zwart e Thompson (2020), a lignificação dos tecidos radiculares de trigo estão associados ao teor de compostos fenólicos e atividade de enzimas antioxidantes em genótipos de trigo resistentes ao nematoide-das-lesões-radiculares (*P. thornei*).

A importância da atividade da polifenoloxidase nas interações planta-patógeno deve-se à sua propriedade em oxidar compostos fenólicos em quinonas, os quais são muito mais tóxicos aos patógenos do que o fenol original, e à sua ação protetora no local do ferimento (CONSTABEL; BARBEHEN, 2008). Por esta razão, admite-se que um aumento na atividade da PPO resulta em altas concentrações de produtos tóxicos e, portanto, maior grau de resistência ao hospedeiro (RAHAMAN; ZWART; THOMPSON, 2020). No presente estudo, foi observada atividade constitutiva da PPO em três porta-enxertos resistentes (548-44, IBCA-125 e VR 043-43) e dois suscetíveis (Gravesac e Harmony). Por outro lado, aumento da atividade enzimática, induzida pelo parasitismo de *M. xenoplax*, foi observado nos porta-enxertos Kober 5BB e R99, indicando que a natureza da resistência difere entre os genótipos em constitutiva e induzida. O parasitismo de *M. xenoplax* provavelmente foi afetado pelo aumento da atividade da PFO, nos genótipos resistentes, por meio da oxidação de compostos fenólicos em quinonas, refletindo no FR e nos parâmetros de desenvolvimento. Alterações na atividade das enzimas PPO e POD têm sido associadas como mecanismos de defesa constitutivos e induzidos contra a infecção por nematoides (SHARMA et al., 2012; RAHAMAN; ZWART; THOMPSON, 2020). Carneiro et al. (1998) avaliando a atividade de PPO e POD em porta enxertos de pessegueiro, verificou que as maiores atividades dessas enzimas ocorreram, de uma forma geral em porta-enxertos com menores fatores de reprodução do nematoide-anelado.

Atividades constitutivas e aumento da atividade da PPO são relatados como responsáveis pela inibição da penetração do nematoide-cavernícola (*Radopholus similis*) em cultivares de banana. Hung e Rohde (1973) relataram aumento dos teores de ácido clorogênico, um composto fenólico oxidado pela PPO, originando quinonas; e da atividade da PPO em raízes de tomateiro resistentes a *P. penetrans*, indicando uma resposta de defesa induzida. Estudos sobre a interação de cultivares de

bananeira com *Pratylenchus coffeae* mostraram maiores atividades das enzimas PPO e POD nos tratamentos inoculados e não inoculados de cultivares resistentes, em comparação com cultivares suscetíveis, indicando que essas enzimas compõem as defesas constitutivas das plantas (DEVI et al., 2007; BACKIYARANI et al., 2013).

A enzima ascorbato-peroxidase é considerada uma das peroxidases mais importantes, pois catalisa a redução do  $H_2O_2$ , utilizando ácido ascórbico como substrato, reduzindo os danos por peroxidação lipídica e degradação de ácidos nucleicos (LO; NICHOLSON, 2008). Além do  $H_2O_2$ , o ânion superóxido ( $O_2^-$ ) é outra forma de EROs formadas durante o ataque de fitopatógenos. Entretanto, estas moléculas não são “dismutadas” pelas enzimas APX, POD ou CAT. Esta função cabe à SOD, gerando  $O_2$  e  $H_2O_2$ , sendo este último, posteriormente reduzido à  $O_2$  e  $H_2O$  pela APX, minimizando os efeitos tóxicos às células vegetais (BAKER; ORLANDI, 1995). No presente estudo, a atividade da SOD foi significativamente maior em plantas que se comportaram como resistentes ou tolerantes a *M. xenoplax*, indicando que o  $O_2^-$  formado pelo parasitismo do nematoide foi dismutado em  $O_2$  e  $H_2O_2$  pela ação desta enzima. Nesta mesma linha de raciocínio, foi observado aumento da atividade da APX nos mesmos porta-enxertos em que aumento da atividade da SOD foi detectado, indicando que a atividade da APX estava diretamente associada à redução do  $H_2O_2$  gerado pela atividade da SOD.

Ainda em relação as enzimas antioxidantes, tanto a catalase (CAT), assim como APX e POD, atuam na redução do  $H_2O_2$  a  $O_2$  e  $H_2O$  no controle do estresse oxidativo (MITTLER, 2002). Além disso, a CAT é a principal catalisadora da detoxificação de  $H_2O_2$  nos peroxissomos. Por outro lado, a atividade da CAT pode sofrer regulação através do ácido salicílico (AS), sendo inibida pelo aumento das concentrações do mesmo e um indicativo de resistência sistêmica adquirida (SAR) (CONRATH et al., 1994; RAO et al., 1997). A atividade da CAT, apesar de detectada, foi relativamente baixa nos genótipos resistentes, assim como nos tolerantes, indicando que, provavelmente, esta enzima foi inibida pelo acúmulo de AS nas plantas parasitadas por *M. xenoplax*. O AS pode se acumular na área de penetração de fungos ou inserção do estilete de nematoides e translocar-se sistemicamente para órgãos da planta não afetados (VLOT; DEMPSEY; KLESSIG, 2009). Este fitohormônio possui a capacidade de se mover nos tecidos (principalmente via floema) e atuar como eliciador, acionando os sistemas de defesa celular, com consequente aumento da expressão de genes que codificam PR-proteínas, modificações da parede celular e

produção de fitoalexinas (VLOT; DEMPSEY; KLESSIG, 2009). Além disso, o acúmulo de AS em resposta ao ataque de patógenos se correlaciona positivamente com a deposição de lignina e a resistência (MA et al., 2017; TANG et al., 2019).

A enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) desempenha um papel essencial na biossíntese dos fenilpropanóides, lignina, fitoalexinas e ácido salicílico (MACDONALD; D'CUNHA, 2007). O AS é sintetizado pela via do ácido chiquímico, com o ácido corísmico servindo como precursor e convertido à AS através de duas vias enzimaticamente distintas, em uma delas a FAL catalisa a conversão da L-fenilalanina em ácido *trans*-cinâmico, que é então descarboxilado em ácido benzoico, seguido de duas hidroxilações a AS (GARCION; MÉTRAUX, 2007). Neste sentido, o aumento da atividade da FAL resulta no aumento da síntese de AS. Aumento da atividade da FAL foi observado em todos os genótipos que se comportaram como resistentes ou tolerantes ao nematoide-anelado, ao passo que, baixa atividade da CAT foi constatada nos mesmo genótipos, reforçando a hipótese de que houve aumento da síntese de AS, com conseqüente redução da atividade da CAT. Ao que tudo indica, este comportamento refletiu na reprodução do nematoide e nos parâmetros de desenvolvimento dos genótipos resistentes e/ou tolerantes.

Entre as proteínas relacionadas a patogênese, as  $\beta$ -1,3 glucanases, pertencentes à família PR-2, são enzimas altamente reguladas e desempenham um papel importante não apenas na defesa contra patógenos, mas também nos processos fisiológicos e bioquímicos das plantas (BALASUBRAMANIAN et al., 2012). No presente estudo, aumento da atividade da  $\beta$ -GLU foi observado em função do parasitismo do nematoide anelado em vários genótipos. A  $\beta$ -1,3 glucana é um importante componente da parede celular de fungos fitopatogênicos e está distribuída em diversos locais na planta, principalmente na parede celular, ao redor dos plasmodesmas (ZAVALIEV et al., 2011), canais responsáveis pela conexão citoplasmática entre células vizinhas. No entanto, como a cutícula dos fitonematoides carece de  $\beta$ -1,3 glucana, é provável que a atividade da  $\beta$ -GLU, observada neste estudo, esteja envolvida no processo de degradação de calose, um polímero de  $\beta$ -1,3-glucana depositado durante o início do parasitismo de *M. xenoplax*, ao redor do local de inserção do estilete, um indicativo de PTI [resistência ativada por PAMPs (padrões moleculares associados ao patógeno) ou DAMPs (padrões moleculares associados ao dano)].

A inserção do estilete de *M. xenoplax* induz a síntese e aumenta a deposição de calose, formando uma espécie de cinturão ao redor dos plasmodesmos, ao ponto de obstruí-los e interferir na comunicação célula-célula em plantas de pessegueiro (HUSSEY; MIMS; WESTCOTT, 1992).  $\beta$ -1,3 glucanases tem a capacidade de reverter esta deposição (ZAVALIEV et al, 2011), mediando a resposta da planta durante o parasitismo de *M. xenoplax*, o que pode estar relacionado às maiores atividades dessa enzima nos porta-enxertos resistentes.

O plantio de porta-enxertos resistentes é postulado como um dos meios mais econômicos para manter alta produtividade de videiras em solo infestado por nematoides (FERRIS; ZHENG; WALKER, 2012). No entanto, o grau de resistência e/ou tolerância entre os porta-enxertos pode variar de acordo com as densidades populacionais do nematoide-anelado (PINKERTON et al., 2005). McKenry (2001) registrou redução de até 25% na produção quando a população de *M. xenoplax* excedeu 500 nematoides/kg de solo. No presente estudo, embora não tenham sido obtidos dados de produção de frutos, cabe inferir que o estresse desencadeado pelo parasitismo de *M. xenoplax* comprometeria as variáveis de produtividade, visto que o gasto de energia na síntese de compostos de defesa e o consumo de carboidratos durante a fase de dormência das plantas resultaria em alterações na floração, brotação, enchimento das bagas.

Além da resistência a fitonematoides, características importantes na seleção de porta-enxertos devem ser consideradas, como a facilidade na propagação, enxertia compatível com diferentes cultivares copa e adaptação a uma variedade de condições de solo (REISCH et al., 2012). Os genótipos que se comportaram como resistentes neste estudo, possuem estas características, além de diferentes níveis de resistência à antracnose e ao míldio. Entre estes materiais, VR 043-43 já foi inserido no Registro Nacional de Cultivares/MAPA, entretanto, 548-44 e IBCA-125 ainda são genótipos experimentais com grande potencial para uso no Sul do Brasil.

Em resumo, fontes de resistência a espécies do nematoide-das-galhas foram relatadas em *V. aestivalis*, *V. champinii*, *V. cinerea*, *V. mustangensis* (sin. *V. candidans*), *V. rupestris* e *V. rotundifolia* e a *X. index* em *V. arizonica*, *V. rufotomentosa* e *V. rotundifolia* (HARRIS, 1984; COUSINS; WALKER, 2003; FERRIS; ZHENG; WALKER, 2012). O reconhecimento da importância de *V. rotundifolia*, nativa do sudeste dos Estados Unidos, como fonte de genes que conferem resistência a várias pragas e doenças (OLMO, 1986) estimulou melhoristas a explorar cruzamentos



interespecíficos, utilizando esta espécie como um dos parentais. Alguns desses cruzamentos resultaram nos porta-enxertos VR 039-16 e VR 043-43, resistentes a *X. index* e tolerantes ao vírus da degenerescência da videira (Grapevine fanleaf virus), doença viral transmitida por este nematoide (WALKER et al., 1989).

Os resultados observados neste estudo, comprovam que *V. rotundifolia* possui fontes de resistência a *M. xenoplax*, pois todos os genótipos que se comportaram como resistentes possuem esta espécie como um dos parentais. Sendo assim, VR 043-43 pode ser recomendado para o plantio em áreas com histórico de infestação pelo nematoide-anelado, assim como, num futuro próximo, IBCA-125 e 548-44 também poderão servir como opção de controle deste nematoide, que além de ser polífago e cosmopolita, vêm sendo frequentemente associado a vinhedos em declínio no Sul do Brasil. Além disso, essas duas seleções também podem ser usadas como progenitores em programas de melhoramento de porta-enxertos visando resistência.

### **3.3.2. Estudo da interação entre *Mesocriconema xenoplax* e *Ilyonectria macrodidyma* em genótipos de videira**

Fatores de reprodução e populações finais de *M. xenoplax* (*Mx*) no solo, na presença ou ausência de *I. macrodidyma* (*Im*), nos quatro genótipos de videira estudados estão apresentados na Tabela 16. Para estas variáveis, foi constatada interação significativa entre os genótipos e a interação nematoide/fungo ( $P = 0,0006$ ). Semelhante ao que foi observado no ensaio de reação de genótipos ao nematoide-anelado, o porta-enxerto VR 043-43 se comportou como resistente ao referido nematoide, tanto na presença de *I. macrodidyma* (+N+F) (FR = 0,13), quando em seu efeito isolado (+N-F) (FR = 0,13). Por outro lado, os FRs de *M. xenoplax* nos porta-enxertos R99 e Bordô apresentaram aumento de duas a nove vezes, na presença de *I. macrodidyma*. O porta-enxerto Paulsen 1103 foi o único, entre os genótipos suscetíveis que não apresentou diferença da população final e do FR de *Mx* em interação com *Im*, quando comparado ao efeito isolado do nematoide em questão.

Quanto a suscetibilidade dos genótipos ao nematoide-anelado, a cultivar copa Bordô apresentou a maior população final e, conseqüentemente, o maior FR de *M. xenoplax* entre os materiais estudados, tanto em interação, quanto isoladamente. Na ausência de *I. macrodidyma*, foi observado um FR de aproximadamente 2,5 no porta-enxerto R99, em conformidade com o FR observado no ensaio de reação

(FR = 2,05), sendo o genótipo suscetível com o menor FR. Entretanto, em interação com *I. macrodidyma*, *M. xenoplax* foi capaz de aumentar sua população em 10 vezes neste mesmo genótipo.

**Tabela 11.** População final de nematoides (PF), fator de reprodução (FR) e tipo de reação de genótipos de videira infestados com *M. xenoplax* (+N) e inoculados (+F) ou não (-F) com *I. macrodidyma*, sob condições de casa de vegetação.

Genótipo	PF		FR		Reação
	+N+F	+N-F	+N+F	+N-F	
Paulsen 1103	18.051,4 b <sup>1/</sup>	16.672,0 b	18,1 c	16,7 a	S
R99	22.357,3 b*	2.487,9 b	22,4 b*	2,5 c	S
VR043-43	127,0 d	131,8 c	0,13 d	0,13 d	R
Bordô	82.898,4 a*	42.135,3 a	82,9 a*	42,1 b	S
CV (%)	28,66	28,66	25,16	25,16	

<sup>1/</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ), comparando os diferentes genótipos. Médias seguidas por (\*) na linha diferem entre si pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando plantas inoculadas (+F) e não inoculadas (-F) com *I. macrodidyma*  
<sup>2/</sup>Reação de resistência/suscetibilidade, segundo Oostenbrink (1966). S: suscetível; R: resistente.

Os resultados obtidos no ensaio de interação entre *M. xenoplax* e *I. macrodidyma*, relativos às variáveis de desenvolvimento são apresentados na Tabela 17. Foi constatada interação significativa entre os fatores para a massa fresca da parte aérea ( $P = 0,0046$ ), massa fresca de raiz ( $P = 0,0415$ ) e teores de clorofila total ( $P < 0,0001$ ) e carotenoides ( $P < 0,0001$ ).

Para a massa fresca da parte aérea (MFPA), foram observadas diferenças significativas para os genótipos Paulsen 1103, R99 e Bordô, tanto para interação (+N+F), quanto para o efeito isolado de cada patógeno (+N-F e -N+F). O efeito combinado de *Mx* e *Im* resultou em 40% de redução da MFPA de R99, por outro lado, o efeito isolado de *Im* resultou em 28,8% e quando apenas *Mx* estava presente, 16,6% de redução desta variável foi observada. Não foram observadas reduções no porta-enxerto VR 043-43 para a interação ou para o efeito isolado de cada patógeno. No porta enxerto Paulsen 1103, o efeito combinado de *Mx* e *Im* resultou em maiores reduções (40,8%) quando comparado ao efeito isolado de *Mx* (26,4%) ou *Im* (28,2%), sendo que não houve diferenças nas reduções para os efeitos isolados.

**Tabela 12.** Massa fresca da parte aérea e raízes, teores de clorofila total e carotenoides em genótipos de videira submetidos a diferentes combinações de inoculação com *M. xenoplax* (+N e -N) e *I. macrodidyma* (+F e -F), sob condições de casa de vegetação.

Genótipo	Massa fresca parte da aérea (g)								Massa fresca das raízes (g)							
	-N-F		+N+F		-N+F		+N-F		-N-F		+N+F		-N+F		+N-F	
Paulsen	23,68	Aa <sup>1/</sup>	14,03	ABc	17,44	Ab	17,01	Ab	61,98	Ba	45,05	Cb	50,95	Cb	51,34	Bb
R99	21,18	Ba	12,62	Bbc	15,07	Bb	16,57	Ab	77,08	Aa	56,11	Bc	65,82	Bb	69,73	Ab
VR043-43	17,46	Bb	16,94	Aa	17,32	Aa	17,72	Aa	80,29	Aa	78,52	Aa	76,24	Aa	75,22	Aa
Bordô	22,79	Aa	12,88	Bc	17,19	Ab	13,05	Bc	52,56	Ca	38,70	Db	51,59	Ca	38,8	Cb
CV (%)	22,44		27,85		24,39		24,22		20,80		23,02		24,82		22,09	

Genótipo	Clorofila Total (mg/g massa fresca)								Carotenoides (mg/g massa fresca)							
	-N-F		+N+F		-N+F		+N-F		-N-F		+N+F		-N+F		+N-F	
Paulsen	1,61	Ca	0,74	Db	1,53	Ba	0,86	Db	0,15	Ba	0,08	Cb	0,13	Ba	0,06	Cb
R99	1,84	Ba	1,40	Bc	1,55	Bb	1,55	Bb	0,17	Aa	0,13	Bb	0,17	Aa	0,17	Aa
VR043-43	1,87	Ba	1,82	Aa	1,84	Aa	1,85	Aa	0,19	Aa	0,17	Aa	0,18	Aa	0,17	Aa
Bordô	2,33	Aa	0,93	Cc	1,44	Cb	1,04	Cc	0,13	Ba	0,09	Cb	0,12	Ba	0,09	Bb
CV (%)	8,01		5,74		9,49		5,20		16,52		15,65		17,77		9,44	

<sup>1/</sup> Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando os diferentes genótipos. Médias seguidas por mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando as diferentes combinações entre *M. xenoplax* e *I. macrodidyma*.

Na cultivar copa Bordô, as maiores reduções para a variável em questão resultaram da interação entre *Mx* e *Im* (43,5%) e do efeito isolado de *Mx* (42,7%). *Ilyonectria macrodidyma*, isoladamente, foi responsável por 24,6% de redução de MFPA nesta cultivar.

Reduções na massa fresca de raízes (MFRA) também foram observadas pela interação entre *Mx* e *Im* ou pelo efeito isolado de cada patógeno. Similar às reduções de MFPA, o efeito da interação resultou em maior redução da MFRA em Paulsen 1103 (27,3%) e em R99 (27,2%), quando comparado aos demais tratamentos. Nestes mesmos porta-enxertos, o efeito isolado de *Mx* resultou em 17,2 e 9,5% de redução, respectivamente. Por outro lado, reduções de 17,8 e 14,6% resultaram do efeito isolado de *Im* em Paulsen 1103 e R99, respectivamente. A MFRA do porta-enxerto VR 043-43 não foi afetada por nenhum dos patógenos, seja em combinação ou isoladamente. Na cultivar copa Bordô, não foram observadas reduções em função do efeito isolado de *Im*, quando comparado às plantas não infestadas e não inoculadas (-N-F). As reduções resultantes da interação entre *Mx* e *Im* (26,4%) não diferiram das reduções em consequência do efeito isolado de *Mx* (26,8%).

Quanto aos teores de pigmentos fotossintéticos, houve redução tanto para clorofila total, quanto para carotenoides. As maiores reduções foram observadas em função da presença dos dois patógenos em todos os genótipos suscetíveis, para ambos os pigmentos. O efeito da interação entre *Mx* e *Im* resultou em 60,1% de redução da CFL em 'Bordô', 54,0% em 'Paulsen 1103' e 24,0% em 'R99'. Para carotenoides, reduções de 46,7, 30,8 e 23,5% foram observadas em 'Paulsen 1103', 'Bordô' e 'R99', respectivamente, em função do parasitismo de *Mx* e *Im*. O efeito isolado de *Mx* resultou em maiores reduções de CFL e CRT em 'Paulsen 1103' (46,6 e 60%) e em 'Bordô' (55,3 e 30,76%), quando comparado às reduções resultantes do efeito isolado de *Im* (5,0 e 13,3% em 'Paulsen 1103' e 38,2 e 7,8% em 'Bordô').

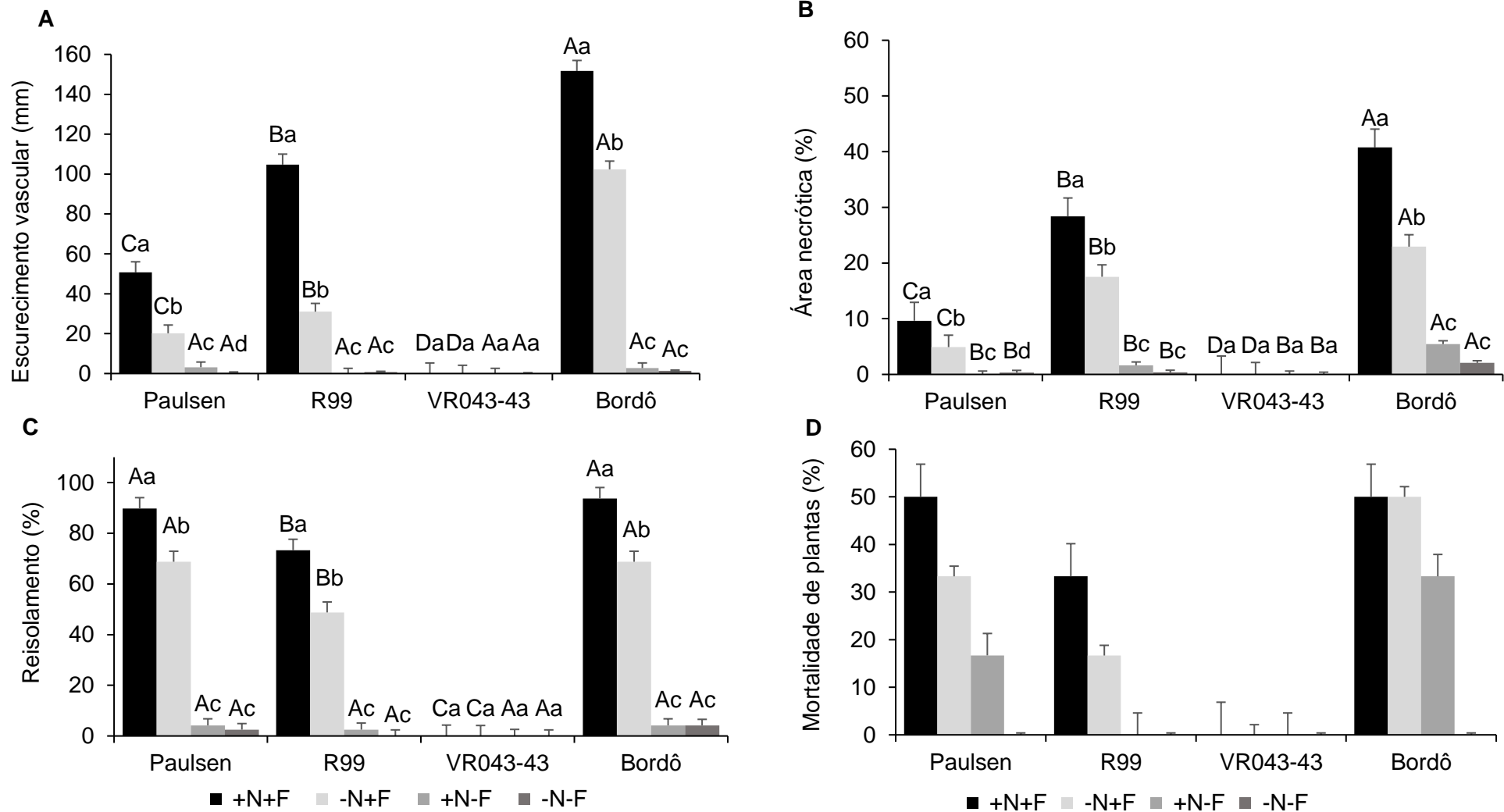
Referente às variáveis associadas aos sintomas vasculares (Figura 15), foi constatada interação significativa entre os fatores genótipo e interação *Mx/Im* para o escurecimento vascular ( $P = 0,0014$ ) e área necrótica ( $P < 0,0001$ ). Não foi observado escurecimento nos tecidos vasculares do porta-enxerto VR 043-43. Por outro lado, as maiores extensões de escurecimento vascular causadas por *Im* foram observadas na cultivar copa Bordô, tanto em interação com *Mx* (151,6mm), quanto em seu efeito isolado (102,4mm). A interação *Mx/Im* e o efeito isolado de *Im* resultaram em maior escurecimento em 'R99' (105,0 e 31,0mm) do que em 'Paulsen 1103' (50,7 e 28,2mm).

Apesar de ter sido observado escurecimento dos tecidos em plantas onde *Im* não foi inoculado, a extensão do escurecimento foi mínima e não diferiu entre os genótipos. Comparando os genótipos, a extensão do escurecimento vascular resultante da interação entre *Im* e *Mx* variou de 0,0 a 151,6 mm. Na ausência de *Mx*, a extensão vascular associada a *Im* resultou em escurecimento de 0 a 102,4mm.

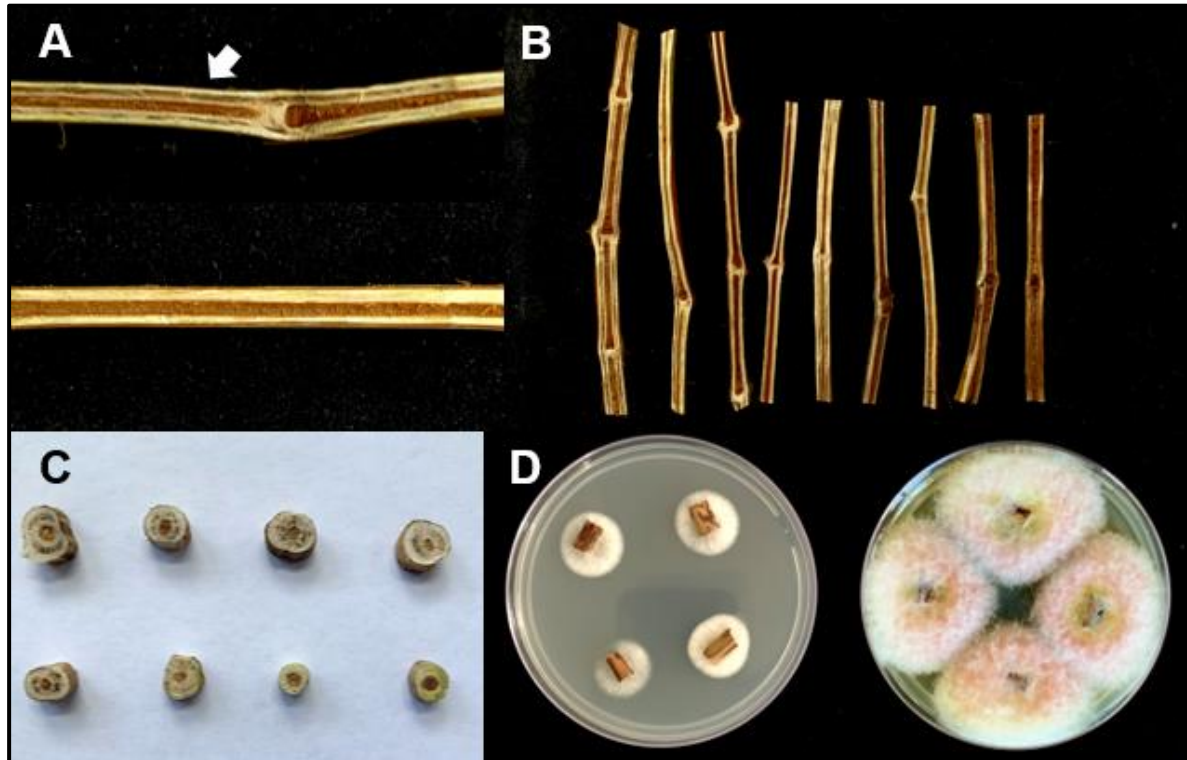
Similar ao que foi observado para o escurecimento vascular, a área necrótica observada em secções transversais de caules (Figuras 16A, 16B e 16C) foi significativamente maior para o efeito combinado dos dois patógenos em Bordô, R99 e Paulsen 1103. Não foram observados pontos necróticos no porta-enxerto VR 043-43. Também foram observados pontos necróticos em Bordô, R99 e Paulsen 1103, em tratamentos onde *Im* não foi inoculado. Os danos vasculares observados na cultivar copa foram significativamente maiores, quando comparada aos demais genótipos em todas as diferentes combinações de infestação com *Mx* e inoculação com *Im*.

Ao final do ensaio, foram observados sintomas de clorose e redução significativa do vigor, principalmente na cultivar copa e no porta-enxerto R99, sendo tais verificações mais evidentes para o efeito da interação ente *Mx* e *Im* e em concordância com as reduções observadas nas variáveis de desenvolvimento. A mortalidade de plantas foi significativamente maior na cultivar copa Bordô, tanto para a interação (50,0%) quanto para o efeito isolado de *Im* (50,0%) ou *Mx* (33,3%). A interação entre *Im* e *Mx* resultou em mortalidade de 50,0% das plantas do porta-enxerto Paulsen 1103 e 33,3% de R99. Por outro lado, o efeito isolado de *Im* resultou em morte de 33,3% de plantas de Paulsen 1103 e de 16,7 de R99. Quando somente o efeito de *Mx* foi avaliado, observou-se 33,3 e 16,7% de mortalidade de plantas em Bordô e Paulsen 1103, respectivamente. Não foi observada morte de plantas no tratamento não foram inoculadas com ambos os patógenos. Apesar de não ter sido observado sintomas ou reisolamento de *I. macrodidyma* em 'VR 043-43', Rasera (2005) relatou suscetibilidade deste material ao patógeno. Entretanto, no referido trabalho, não foi realizado reisolamento do patógeno em tecidos infectados para a correta associação dos sintomas.

A percentagem de recuperação de *I. macrodidyma* de fragmentos (Figura 16D) foi acima de 80% em 'Bordô' e 'Paulsen' e de aproximadamente 75% em 'R99' no tratamento +N+F. As maiores percentagens de recuperação, quando foi estudado o efeito isolado de *Im*, foram observadas nos genótipos Bordô e Paulsen 1103 (70,0%), os quais diferiram da recuperação em fragmentos em 'R99' (49,0%).



**Figura 15.** Área necrótica (A), escurecimento vascular (B), reisolamento de *I. macrodidyma* (C) e mortalidade (D) de plantas de videira submetidas a diferentes combinações de infestação com *M. xenoplax* (+N e -N) e inoculação com *I. macrodidyma* (+F e -F). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando os diferentes genótipos. Médias seguidas por mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando as diferentes combinações entre *M. xenoplax* (+N e -N) e *I. macrodidyma* (+F e -F). Barras verticais representam a média  $\pm$  o desvio padrão.



**Figura 16.** Danos vasculares e recuperação de *I. macrodidyma* em fragmentos de caules de videira. **A e B)** Escurecimento vascular em secções longitudinais; **C)** Área necrótica em secções transversais; **D)** Reisolamento de *I. macrodidyma*.

Aumento da população de *M. xenoplax* em genótipos suscetíveis foi observado neste estudo, principalmente na cultivar copa Bordô e no porta-enxerto R99. Segundo Back, Haydock e Jenkinson 2002, ao se alimentar das raízes, os nematoides induzem mudanças fisiológicas em seus hospedeiros, aumentam exsudação radicular, a respiração e a atividade microbiana na rizosfera, pois os metabólitos liberados são compostos por nutrientes para outros microrganismos. Além disso, o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> na rizosfera de tomate e berinjela foi considerado fator chave para o aumento da população de fitonematoides em plantas infectadas por *Verticillium* spp. (MAKEEN; MOUNTAIN, 1960).

O parasitismo de *M. xenoplax* em videira provoca o escurecimento local e rápido do sistema radicular, seguido da destruição dos tecidos, resultando no atrofiamento dessas raízes, principalmente radicelas (SANTO; BOLANDER, 1977). Análises de ultraestrutura de tecidos após a alimentação por *M. xenoplax* demonstraram severa destruição nas camadas do córtex radicular (LOWNSBERRY et al., 1978), o que pode facilitar a penetração de fungos e bactérias presentes no solo.

No presente estudo, em genótipos onde foi observado aumento da população do nematoide-anelado em interação com o fungo causador do pé-preto, maiores danos vasculares, ponderados como escurecimento vascular e área necrótica; e maior recuperação de *I. macrodidyma* dos tecidos, também foram observados. Este comportamento levanta a hipótese de que, ao se alimentar das raízes, *M. xenoplax* favoreceu a penetração de *I. macrodidyma* que, colonizar os tecidos, promoveu aumento da exsudação radicular e da concentração de CO<sub>2</sub>, refletindo na maior população de nematoides em R99 e Bordô. Alguns estudos têm demonstrado a importância da concentração de CO<sub>2</sub> na atração de nematoides dos gêneros *Ditylenchus*, *Meloidogyne*, *Pratylenchus* para seus hospedeiros (PROT, 1980; VIGLIERCHIO, 1990; ROBINSON, 1995; BANERJEE; HALLEM, 2020).

Considerando o conceito de sinergismo proposto por Back, Haydock e Jenkinson (2002), onde uma interação é considerada sinérgica quando os danos ao hospedeiro, resultantes da interação entre dois agentes, excedem a soma dos danos dos organismos individuais, uma clara indicação deste fenômeno é demonstrada neste estudo, pois o efeito da interação entre *Mx* e *Im* excedeu a soma dos danos individuais de cada patógenos para os sintomas vasculares e mortalidade de plantas. Um exemplo de interação sinérgica envolvendo *M. xenoplax* foi relatado por Nyczepir (1983), demonstrando que o parasitismo do nematoide-anelado em pessegueiro favorece a infecção por *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, resultando em alterações fisiológicas e antecipação da superação de dormência, predispondo as plantas aos danos causados pelo frio. Bastante similar ao DMV, a doença do replantio da macieira (*Apple Replant Disease*) é outro exemplo que envolve o sinergismo entre fungos (*Rhizoctonia*, sp., *Ilyonectria* sp.) e o nematoide-das-lesões-radulares (*P. penetrans*), neste caso, oomicetos (*Pythium* sp. e *Phytophthora* sp.) também são relatados, aumento ainda mais a complexidade da doença (MAZZOLA, 1997).

Doenças de plantas em que mais de um patógeno está envolvido no processo de infecção são comumente denominadas como “complexas”, uma vez que seu diagnóstico e controle são mais complicados (LAMICHHANE; VENTURI, 2015), como no caso do DMV. Tais doenças ocorrem como resultado de uma rede que envolve uma ampla gama de interações, tanto bióticas quanto abióticas. Conseqüentemente, nosso conhecimento sobre um possível sinergismo entre *Mx* e *Im*, que leva ao aumento da gravidade da doença, ainda é limitado, visto que este é o primeiro estudo envolvendo a interação desses dois agentes e seus efeitos no DMV. No entanto, o



aumento dos danos resultantes do sinergismo entre *Mx* e *Im* foi demonstrado neste estudo e é provável estejam envolvidos no desencadeamento do DMV a campo. Por outro lado, estudos envolvendo outras interações de agentes também ser realizados, visto que fungos dos gêneros *Phaeoacremonium*, *Botryosphaeria*, *Fusarium*, *Verticillium* e outros, também são relatados associados ao DMV, assim como outros gêneros de fitonematoides (GARRIDO et al., 2004; GOMES; CAMPOS; COSTA, 2009; MENEZZES-NETO, 2016; DIVERS et al., 2019).

No que se refere à recuperação de *I. macrodidyma* de fragmentos de caule onde não foi realizada inoculação, é provável que o fungo estivesse presente em infecções latentes (endofítico), como observado nos estudos de Úrbez-Torrez et al. (2014) e Gramage et al. (2018). Estes autores relataram o isolamento de fungos causadores de DTV, entre eles *Ilyonectria* spp., em tecidos assintomáticos. Entretanto, os resultados deste estudo sugerem que a penetração de *I. macrodidyma* nos tecidos radiculares foi facilitada pela alimentação de *M. xenoplax*, pois os maiores danos aos tecidos vasculares e reisolamentos foram observados quando o solo foi primeiramente infestado com o referido nematoide.

Na rizosfera das plantas, existem inúmeras oportunidades para interações entre patógenos devido ao fato de ocuparem o mesmo nicho ecológico (LIANG et al., 2019). Enquanto o antagonismo pode ocorrer entre eles em suas competições por espaço e recursos, interações sinérgicas também são possíveis de causar maiores danos às culturas (BJÖRSELL; EDIN; VIKETOFT, 2017; ZHANG et al., 2020). A interação entre fungos e nematoides na predisposição a doenças é conhecida, embora ainda careça de informações. Além disso, há grande foco nas interações antagônicas, na busca de novas estratégias de controle de doenças (YANG et al., 2020). Entretanto, o estudo das interações sinérgicas é de importância crucial para o entendimento da patogênese do DMV e consequente desenvolvimento de estratégias de manejo e prevenção desta síndrome.

### **3.4. Conclusões**

Os porta-enxertos 548-44, IBCA-125 e VR 043-43 são resistentes e tolerantes a *M. xenoplax*, enquanto os porta-enxertos Paulsen 1103 e Gravesac são suscetíveis e tolerantes ao referido nematoide.

*Mesocriconema xenoplax* afeta negativamente os teores de massa fresca da parte aérea e raiz, altera os teores de pigmentos fotossintéticos e o teor de carboidratos totais em genótipos suscetíveis.

O aumento das atividades das enzimas FAL, CAT, SOD, POD, PPO, APX, SOD e GLU está associado à reação de resistência e a tolerância dos genótipos de videira estudados.

O efeito da interação entre *M. xenoplax* e *I. macrodidyma* potencializa os sintomas em genótipos de videira suscetíveis, predispondo as plantas ao declínio.

O parasitismo de *M. xenoplax* favorece a infecção por *I. macrodidyma* em genótipos de videira suscetíveis.

#### **4. CAPÍTULO III. Caracterização da nematofauna em vinhedos em declínio no sul do Brasil, reação de genótipos de *Vitis* sp. ao nematoide-das-lesões-radiculares (*Pratylenchus brachyurus*) e sua interação com *Ilyonectria macrodidyma***

##### **4.1. Introdução**

Os fitonematoides são responsáveis por perdas significativas em diversas espécies frutíferas e, muitas vezes, apontados como fator limitante à produtividade (TRUDGILL; BLOK, 2001; FERRAZ; BROWN, 2002). Na vitivinicultura, não figuram de forma diferente, pelo contrário, as nematoses estão entre as principais causas de redução de produtividade em vinhedos de várias regiões vitivinícolas do mundo (PINKERTON et al., 1999; ZASADA et al., 2012) e responsáveis por perdas que variam de 12 a 60% (TELIZ et al., 2007; SCHOLEFIELD; MORISON, 2010).

O parasitismo de fitonematoides em raízes de videira pode causar redução do vigor das plantas (TÉLIZ et al., 2007), devido ao comprometimento do sistema radicular (NICOL et al., 1999), cujos sintomas incluem desde necroses e engrossamento nas raízes, à murchas, amarelecimento foliar e vários outros sintomas reflexo (NAVES; 2005; ASKARY et al., 2018). Além disso, estes fitoparasitas estão entre os fatores bióticos dos quais atribuem-se as causas da síndrome conhecida como declínio e morte da videira (DMV) no Sul do Brasil (GOMES; CAMPOS; COSTA, 2009; CAVALCANTI et al., 2013).

De etiologia complexa, o DMV se tornou uma das maiores preocupações dos vitivinicultores brasileiros nas últimas décadas, constituindo-se um fator de desestímulo e de reduções de investimentos no setor (MENEZES-NETTO et al., 2016). Em levantamentos nas regiões tradicionais de produção (RS e SC) se evidencia um complexo de causas relacionadas ao DMV que comprometem a sustentabilidade destes cultivos vitícolas (Comunicação Pessoal<sup>1</sup>). De acordo com Lazzarotto, Taffarel e Monteiro (2016), o parreiral deve ter uma vida útil (com alta produtividade) de no mínimo 15 anos para, além de recuperar o capital investido na instalação (estimado entre R\$ 40 e 50 mil), apresentar viabilidade econômica

---

<sup>1</sup> Informação fornecida por técnicos da EMATER/RS e Secretarias de Agricultura dos principais municípios produtores de uva do Rio Grande do Sul.

adequada. Contudo, há relatos frequentes de produtores e técnicos (RS e SC) sobre a morte antecipada de plantas e o declínio dos parreirais antes dos 10 anos após o plantio, descapitalizando e agravando a situação econômica e financeira dos viticultores.

Pesquisas listam vários fatores abióticos como condições nutricionais, falhas na enxertia e fitotoxicidade entre as causas dessa doença complexa (GALLOTTI, 1989; BOTTON et al., 2020). Por outro lado, em outros estudos têm sido apontado o possível envolvimento de fatores bióticos, incluindo fitonematoides, insetos, como a pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis* Silvestri, 1936) e a filoxera (*Daktulosphaira vitifoliae* [Fitch, 1855]) e fungos causadores de doenças do tronco da videira (DTV), como *Ilyonectria macrodidyma* (Halleen, Schroers & Crous) Chaverri & Salgado, *Cylindrocarpon* Wollenw, 1913 e *Phaeoacremonium* Gams, Crous & Wingf (GARRIDO et al. 2004; AROCA; RAPOSO, 2007; GOMES; CAMPOS; COSTA, 2009; MENEZES-NETTO et al., 2016) no DMV. No entanto, a interação entre estes agentes na predisposição das plantas ao declínio ainda carece de mais informações a fim de se elucidar tais questões.

A hipótese de associação de fungos causadores de doenças de tronco com o DMV tem adquirido relevância, pois acredita-se que as lesões provocadas por fitonematoides durante a alimentação atuem como aberturas para a entrada de outros patógenos presentes no solo. Consequentemente, ao parasitar o tecido lenhoso das raízes ou do tronco da planta, postula-se que esses parasitas desenvolvem infecções e podridões severas, comprometendo a sobrevivência da planta (GARRIDO et al., 2004; ALMANÇA et al., 2013). Garrido et al. (2004) identificaram sete gêneros de fungos causadores de DTV em vinhedos com sintomas de declínio, sendo o gênero *Cylindrocarpon* (teleomorfo: *Ilyonectria*), agente etiológico do pé-preto da videira, o de maior frequência. Em estudos realizados na Serra Gaúcha, Santos et al. (2014a, 2014b) relataram a ocorrência de *I. macrodidyma*, *I. robusta* (Hildebr.) Cabral & Crous e *C. pauciseptatum* Schroers & Crous em plantas em declínio.

Diversas espécies de fitonematoides são capazes de se multiplicar e causar doença na cultura da videira. No Brasil, entre as espécies listadas como comuns e importantes para os vinhedos, estão *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949, *Mesocriconema xenoplax* (Raski, 1952) Loof & De Grosse, 1989, *X. americanum* Cobb, 1913, *Pratylenchus thornei* Sher & Allen e *P. brachyurus*

(Godfrey, 1929) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941 (WALKER; STIRLING, 2008; GOMES; CAMPOS; COSTA, 2009; ASKARY et al., 2018; DIVERS et al., 2019). Porém, poucos estudos acerca da patogenicidade desses fitoparasitas foram realizados até o momento. Recentemente, as espécies *P. zaeae* Graham, 1951 e *P. brachyurus* foram relatadas em pomares em declínio nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, sendo que, *P. brachyurus* estava presente em 100% das amostras (SILVA et al., 2019).

No Brasil, o controle de nematoses na vitivinicultura fundamenta-se no emprego de porta-enxertos resistentes e/ou tolerantes, especialmente aos nematoides-das-galhas, e no plantio de mudas livres desses fitoparasitas (GOMES; SOMAVILLA; QUECINI, 2014), uma vez que não há nematicidas químicos com registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (AGROFIT, 2022) e não se tem informação sobre o nível de controle dos produtos biológicos sobre os nematoides-praga alvos. Entretanto, as pesquisas de seleção de porta-enxertos resistentes ao nematoide-das-lesões-radiculares, além de exíguos e antigos, concentram-se, principalmente na espécie *P. vulnus* Allen & Jensen, 1951 (CHITAMBAR; RASKI, 1984; PINOCHET; VERDEJO; SOLER, 1992; MCKENRY; KRETSCH; ANWAR, 2001). Além disso, não há registros em literatura em relação a interação entre *P. brachyurus* e fungos causadores de DTV no desenvolvimento do DMV.

Diante da problemática acima detalhada, vê-se como necessária a realização de novos levantamentos nematológicos em vinhedos em declínio, a determinação da reação dos principais genótipos de videira frente ao nematoide *P. brachyurus* e sua interação com o fungo *I. macrodidyma*, visto que as principais causas do DMV são decorrentes da ação de patógenos presentes no solo e dificilmente controlados por produtos químicos.

#### **4.2. Material e Métodos**

Os estudos descritos a seguir foram realizados em parceria com a Embrapa Uva e Vinho e com os Laboratórios de Fitopatologia e de Fisiologia Vegetal da Embrapa Clima Temperado.

#### **4.2.1. Coleta, processamento, identificação e quantificação da nematofauna em vinhedos em declínio no Rio Grande do Sul e Santa Catarina**

No período compreendido entre janeiro e março do ano de 2019, foram coletadas amostras de solo e raízes de videira em vinhedos com sintomas de declínio nos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. As amostras foram obtidas a partir de plantas sintomáticas e de plantas assintomáticas, a fim de comparar os níveis populacionais dos nematoides.

Além das parcerias mencionadas acima, as coletas também contaram com auxílio do grupo de pesquisa da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), sendo cada amostra coletada e georreferenciada com GPS (*Global Position System*). Foram coletadas amostras da região da Serra Gaúcha, nos municípios de Bento Gonçalves, Farroupilha, Santa Tereza e Pinto Bandeira e na região da Rota dos Vinhedos de Santa Catarina, nos municípios de Videira, Tangará e Pinheiro Preto.

As amostras de solo foram obtidas de plantas individuais com e sem sintomas de DMV, as quais foram coletadas com o auxílio de um enxadão, na região de abrangência das raízes, em três pontos da projeção da copa e a uma profundidade de 0 a 25cm da superfície. Cada amostra consistiu em 800-1000g de solo com umidade natural e 100g de raízes. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e identificadas quanto ao porta-enxerto, copa, origem do material e transportadas para o Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Clima Temperado para a identificação da nematofauna e quantificação de seus níveis populacionais.

Para a extração dos nematoides, uma alíquota de 250cm<sup>3</sup> de solo de cada amostra foi processada pelo método de peneiramento e flotação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964). A seguir, as amostras foram identificadas quanto ao gênero, utilizando chave dicotômica (MAI; MULLIN, 1996) e quantificadas sob microscópio estereoscópico (Impac Tokyo), determinando-se o número de nematoides/250 cm<sup>3</sup> de solo. Para as raízes, uma subamostra de 10g de cada amostra foi processada conforme Hussey e Barker (1973) e a suspensão obtida, quantificada e identificada conforme descrito anteriormente.

Nas amostras onde foi identificada a presença do gênero *Pratylenchus*, os espécimes foram separados dos demais com auxílio de uma agulha histológica

flexível, de ponta levemente curvada e transferidos para vasos contendo 5L de solo esterilizado contendo mudas de sorgo cv. BRS 506 para manutenção e multiplicação das populações casa de vegetação ( $25\pm 5^{\circ}\text{C}$ ).

#### **4.2.2. Caracterização morfológica e morfométrica das espécies de *Pratylenchus***

Um isolado do nematoide-das-lesões-radiculares de cada amostra obtida das coletas em pomares de videira com sintomas de declínio, e multiplicadas em plantas de sorgo em casa de vegetação, foi utilizado para montagens temporárias em lâminas de vidro.

As lâminas temporárias foram preparadas conforme técnica descrita por Tihohod (1993). Após a identificação das lâminas/amostra, os espécimes foram examinados e documentados em um sistema de aquisição de imagens, que consistiu em uma câmera de vídeo (Leica DFC 295) acoplada ao microscópio óptico (Leica DM 1000), nas objetivas de 20X e 40X e na objetiva de imersão de 100X, e a um microcomputador, utilizando o software LAS Core, versão 3.7.

A partir de 20 fêmeas de *Pratylenchus* de cada amostra, foi obtido um conjunto imagens de corpo inteiro e de detalhes da região labial, estilete, esôfago, vulva e cauda, permitindo a determinação dos valores das 25 variáveis listadas na Tabela 18. Quanto aos parâmetros morfológicos, foram avaliados o formato dos bulbos do estilete e o formato da cauda.

Os valores de cada variável (quantitativos) foram analisados entre as espécies por meio de análise de componentes principais (ACP), extraíndo os componentes por meio de uma matriz de correlação. Primeiramente, uma ACP foi efetuada para selecionar o número de componentes principais (CP) capazes de reter a maior parte das informações (maior variância). Em seguida, uma segunda ACP foi realizada para obter os agrupamentos. As análises foram realizadas utilizando os pacotes FactoMineR (HUSSON et al., 2017) e factoextra (KASSAMBARA; MUNDT, 2020) disponível no software R Studio (versão 4.1.3) (R Development Core Team 2022).

**Tabela 13.** Parâmetros para a identificação de espécies de *Pratylenchus*.

<b>Medidas (µm)</b>	<b>Medida</b>
L	Comprimento total do corpo
ØLb	Diâmetro da região labial
AltLb	Altura da região labial
St	Comprimento do estilete
NLb	Número de anéis labiais
ØbSt	Diâmetro dos bulbos basais do estilete
AbSt	Altura dos bulbos basais do estilete
DGO	Distância da abertura da glândula esofagiana dorsal aos bulbos basais do estilete
Ø	Maior largura do corpo
V	Distância do extremo anterior à vulva
Oes	Comprimento do esôfago
VB	Diâmetro do corpo ao nível da vulva
VA	Distância da vulva ao ânus
Øa	Diâmetro do corpo ao nível anal
T	Comprimento da cauda
<b>Proporções</b>	
ØLb/ AltLb	Diâmetro / Altura da região labial
a	Comprimento do corpo / maior largura do corpo
b	Comprimento do corpo / comprimento do esôfago
c	Comprimento do corpo / comprimento da cauda
c'	Comprimento do corpo / largura do corpo ao nível anal
<b>Porcentagem</b>	
V%	Distância do extremo anterior à vulva x 100/ L
St%L	Comprimento do estilete x 100/L
St%Oes	Comprimento do estilete x 100/Comprimento do esôfago
<b>Morfologia</b>	
Bulbos St	Arredondado ou achatado
Cauda	Arredondada ou truncada



#### 4.2.3. Reação de genótipos de videira a *Pratylenchus brachyurus*

O ensaio referente à reação de genótipos foi realizado sob condições de casa de vegetação, no período de 18/08/2021 a 18/02/2022, nas instalações da Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS (31°40'53.16"S 52°26'23.60"W; 58 m de altitude).

O material vegetal utilizado foi produzido através de micropropagação de estacas e cultura de tecidos pelo Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Uva e Vinho (Bento Gonçalves/RS). Foram utilizadas mudas de 8 porta-enxertos, a saber: IAC 313 Tropical, Paulsen 1103, Salt Creek, Gravesac, VR043-43, IBCA125, 548-44 e 1111-21; e duas cultivares copa: Chardonnay e Bordô.

As mudas dos diferentes genótipos foram transplantadas, individualmente, em vasos de polietileno com capacidade de 5L, contendo solo esterilizado. Uma população pura previamente identificada como *P. brachyurus*, procedente de vinhedos em declínio e mantida em plantas de sorgo cv BRS 506, foi utilizada como inóculo. Após 20 dias do transplante, uma suspensão com 1000 espécimes (*População inicial-Pi*) de *P. brachyurus*, obtida conforme Coolen e D'Herde (1972), foi inoculada nas raízes das plantas, através de orifícios de quatro centímetros de profundidade, ao redor de cada muda.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 10x2 (10 genótipos, inoculados ou não), com seis repetições para cada tratamento. As plantas foram mantidas em casa de vegetação (25±2°C) por um período de 184 dias, sendo casualizadas semanalmente e monitoradas diariamente quanto a necessidade de água e tratamentos culturais. Para comparação dos danos causados pelo nematoide, plantas não inoculadas foram mantidas sob as mesmas condições.

##### 4.2.3.1. Prospecção dos danos causados por *Pratylenchus brachyurus*

Após 184 dias da inoculação (DAI), amostras de folhas foram coletadas, pesadas e acondicionadas em freezer (-20°C) para quantificação do teor de carboidratos totais. Em seguida, as plantas foram retiradas dos vasos e avaliadas quanto ao teor de clorofila total, carotenoides, massa fresca da parte aérea e massa fresca de raízes. Os teores de clorofila total e carotenoides foram avaliados pelo método do dimetilsulfóxido (DMSO), descrito no próximo item.

As raízes de cada tratamento foram coletadas e, uma subamostra de 10 g de cada repetição foi utilizada para extração dos nematoides, conforme Hussey e Barker (1973). Em função das características inerentes à espécie, além da extração de exemplares das raízes, o número de nematoides no solo também foi estimado. Para isso, o solo de cada tratamento foi coletado, homogeneizado e, uma alíquota de 250 cm<sup>3</sup> foi utilizada para extração pelo método de peneiramento e flotação centrífuga (JENKINS, 1964). Em seguida, a contagem dos nematoides foi realizada sob microscópio estereoscópio (Impac Tokyo), obtendo-se uma estimativa da população final (*Pf*) para a determinação do fator de reprodução ( $FR = Pf/Pi$ ) (OOSTENBRINK, 1966).

#### **4.2.3.2. Determinação dos teores de pigmentos fotossintéticos, carboidratos totais e matéria seca**

Os teores de pigmentos fotossintéticos foram avaliados pelo método do DMSO, proposto por Wellburn (1994). Para extração dos pigmentos, discos foliares com 1,77cm<sup>2</sup> foram obtidos de folhas jovens e completamente expandidas de cada repetição. Em seguida, uma alíquota de 7mL de solução de DMSO (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>OS), saturada com carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>), foi adicionada a tubos de ensaio previamente identificados. Um disco foliar de cada repetição/tratamento foi adicionado ao tubo correspondente e incubado em banho-maria a 65°C por 30 minutos, até que o disco foliar estivesse completamente transparente. Durante a incubação, os tubos foram vedados para evitar a evaporação da solução de DMSO. Após esse período, os tubos foram mantidos no escuro até atingir a temperatura ambiente.

As leituras das absorbâncias foram realizadas nos comprimentos de onda de 480nm, 649nm e 665nm em espectrofotômetro Bel Photonics, modelo 1105 (nível de resolução de 1 a 4nm) para determinação dos teores de clorofila a, b, total e carotenoides. Os teores de clorofila total e carotenoides foram expressos em mg de clorofila ou carotenoides por grama de matéria fresca.

O teor de carboidratos totais foi determinado pelo método proposto por Yemm e Willis (1954). Os extratos foram obtidos por meio de maceração de 500mg de folhas em almofariz com pistilo, com nitrogênio líquido. O macerado de cada amostra foi transferido para tubos de centrifuga, adicionando 5mL de álcool etílico absoluto a 80% (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH), vedado e incubado em banho-maria a 95°C por 10 minutos. Após a

incubação, os volumes de álcool 80% foram ajustados, seguindo para nova centrifugação a 2500rpm por 5 minutos e coletando o sobrenadante ao final deste processo.

Para a etapa de leitura, aos tubos de ensaio identificados, foi adicionada uma alíquota de 500µL do extrato, 500µL de água deionizada e, sob agitação, 5mL de solução de antrona 0,4%, contendo antrona (C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>O) e ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); seguindo para incubação em banho-maria fervente (100°C) por 15 minutos. Após a incubação, os tubos foram submetidos ao banho de gelo, agitados em vórtex e mantidos em repouso por 10 minutos.

As leituras das absorbâncias foram realizadas contra uma curva padrão, utilizando glicose como açúcar de referência, no comprimento de onda de 620nm, em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV - 1601PC. O teor de carboidratos totais foi expresso em porcentagem de carboidratos em base seca.

Para a determinação do teor de matéria seca, cápsulas de porcelana foram secas em estufa a 60°C por 1h. Em seguida, as cápsulas foram retiradas e resfriadas em dessecador. Posteriormente, aferiu-se o peso das cápsulas e adicionou-se as amostras, seguindo para estufa a 60°C. Decorridas 24h, as amostras foram retiradas, transferidas para um dessecador e pesadas até atingirem massa seca constante.

#### **4.2.4. Estudo da interação entre *Pratylenchus brachyurus* e *Ilyonectria macrodidyma* em genótipos de videira**

##### **4.2.4.1. Instalação e inoculação com *Pratylenchus brachyurus* e *Ilyonectria macrodidyma***

O ensaio foi realizado sob condições de casa de vegetação, no período de 12/10/2020 a 15/04/2022, nas instalações da Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS (31°40'53.16"S 52°26'23.60"W; 58 m de altitude).

O material vegetal utilizado foi produzido através de micropropagação de estacas e cultura de tecidos pelo Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Uva e Vinho (Bento Gonçalves/RS). Foram utilizadas mudas de três porta-enxertos: Paulsen 1103, Gravesac e VR043-43; e uma cultivar copa: Niagara Rosada. A inoculação com o nematoide foi realizada conforme descrito anteriormente, utilizando

a mesma população de *P. brachyurus*, densidade de nematoide/planta e respeitando o mesmo período após o transplante das mudas.

Como inóculo de *I. macrodidyma*, foi utilizado o isolado TD 1117, previamente identificado (GenBank MK421588.1) e pertencente a coleção de microrganismos do Laboratório de Fitopatologia do IFRS-BG. Para multiplicação, discos de 0,5 cm de diâmetro, com estruturas fúngicas, foram retirados da amostra armazenada e transferidos para placas de Petri de 8,5 cm de diâmetro, contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA). As placas foram mantidas por 10 dias em câmara de crescimento do tipo BOD a  $25 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 horas. Após esse período, as placas que apresentaram crescimento micelial foram submetidas ao escuro, por 8 dias, para esporulação ( $25 \pm 2$  °C).

Trinta dias após a inoculação de *P. brachyurus*, uma suspensão de  $10^4$  conídios/mL foi calibrada e inoculada nas plantas correspondentes aos tratamentos, através de orifícios de quatro cm de profundidade, próximo às raízes e ao redor de cada muda de videira.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial (4x4), com seis repetições. O fator genótipo teve quatro níveis, representados por quatro genótipos. Já o fator interação teve quatro níveis, a saber: inoculação com nematoide e com fungo (+N+F), inoculação com nematoide e sem fungo (+N-F), inoculação com fungo e sem nematoide (-N+F) e plantas não inoculadas (-N-F). Os tratamentos foram alocados e mantidos em casa de vegetação ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) por um período de 185 dias, sendo casualizadas semanalmente e monitoradas diariamente quanto a necessidade de água e tratamentos culturais.

#### **4.2.4.2. Avaliação de danos e reisolamento *in vitro* de *Ilyonectria macrodidyma***

Após 184 dias da inoculação (DAI), foi quantificado o número de plantas mortas e, em seguida, as plantas vivas foram retiradas dos vasos e avaliadas quanto ao teor de clorofila total, carotenoides, massa fresca da parte aérea e massa fresca de raízes. Os teores de clorofila total e carotenoides foram avaliados pelo método do dimetilsulfóxido (DMSO), descrito anteriormente.

As raízes de cada tratamento foram separadas da parte aérea, identificadas e, avaliadas quanto a massa fresca e uma subamostra de 10 g de cada repetição foi utilizada para extração dos nematoides, conforme Hussey e Barker (1973). Em

seguida, a contagem dos nematoides foi realizada sob microscópio estereoscópio (Impac Tokyo), obtendo-se uma estimativa da população final ( $P_f$ ) para a determinação do fator de reprodução ( $FR = P_f/P_i$ ) (OOSTENBRINK, 1966).

Para avaliação dos danos internos, os caules foram seccionados transversalmente na extremidade basal, separando a parte aérea das raízes. As secções transversais foram fotografadas com uma câmera fotográfica Nikon D5300 e a área necrótica foi calculada utilizando o software de processamento de imagens ImageJ versão 1.53n (FERREIRA; RASBAND, 2012). Fragmentos dos caules, padronizadas em 20 cm de comprimento de cada repetição foram separados, lavados em água corrente e submetidos a desinfestação externa, utilizando, na sequência, álcool 70% (v/v), por 1 minuto, hipoclorito de sódio 3% (v/v) por 1 minuto e novamente álcool 70% (v/v) por 1 minuto (modificado de ALMANÇA et al. 2013). Após a desinfestação e em câmara de fluxo laminar previamente esterilizada, foi retirada a casca dos fragmentos e, em seguida, foram seccionados longitudinalmente para exposição dos tecidos internos. No momento em que os fragmentos foram seccionados, também foram realizadas as avaliações de sintomas de escurecimento interno, medindo-se a extensão do escurecimento vascular a partir da extremidade basal, com auxílio de um paquímetro digital (Starret 727).

O reisolamento de *I. macrodidyma* foi realizado para confirmar se o patógeno foi capaz de atingir novos tecidos da planta e se os sintomas observados estavam atribuídos a sua presença. Para isso, fragmentos de até 1cm de comprimento foram separados e dispostos em placas de Petri, contendo meio de cultura BDA, respeitando o limite três placas por repetição/planta e de quatro fragmentos por placa. Posteriormente, as placas foram mantidas em câmara de incubação tipo BOD com temperatura de  $25 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 horas.

O crescimento do fungo foi observado por até 20 dias, sendo feita a identificação por morfologia comparativa (ÚRBEZ-TORRES et al., 2014). Após a confirmação, foi registrado o número de fragmentos que apresentaram crescimento ou não do fungo, gerando o percentual de reisolamento, calculado a partir do número de fragmentos com crescimento fúngico sobre o total de fragmentos do tratamento.

#### 4.2.4.3. Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk; à homoscedasticidade pelo teste de Hartley; e a independência dos resíduos por análise gráfica. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) através do teste  $F$  ( $P \leq 0,05$ ).

Para o ensaio de reação de genótipos, constatada significância estatística, as médias das variáveis foram comparadas entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ) para o fator genótipo, e pelo teste exato de Fisher (teste t) ( $P \leq 0,05$ ) para o fator inoculação, utilizando os softwares SASM-Agri (CANTERI et al., 2001) e SAS versão 9.4 (SAS, 2016). Adicionalmente, a reação dos genótipos foi classificada de acordo com os valores de FR, considerando-se como resistentes, aqueles cujo nematoide apresentou  $FR < 1,00$ , imunes aqueles com  $FR = 0$  e suscetíveis aqueles com  $FR > 1,00$  (OOSTENBRINK, 1966). Complementarmente, os valores das diferentes variáveis foram correlacionados entre si pela análise de correlação de Pearson, utilizando o software SAS versão 9.4 (SAS, 2016).

Quanto ao ensaio de interação, constatada significância estatística, as médias das variáveis foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ), para os fatores genótipo e interação, utilizando software estatístico SAS versão 9.4. Para as variáveis área necrótica, escurecimento vascular e reisolamento, as médias de cada tratamento foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ), utilizando o software estatístico SAS versão 9.4 (SAS, 2016) e plotadas em gráfico de barras.

### 4.3. Resultados e Discussão

#### 4.3.1. Nematofauna associada a vinhedos em declínio do RS e SC

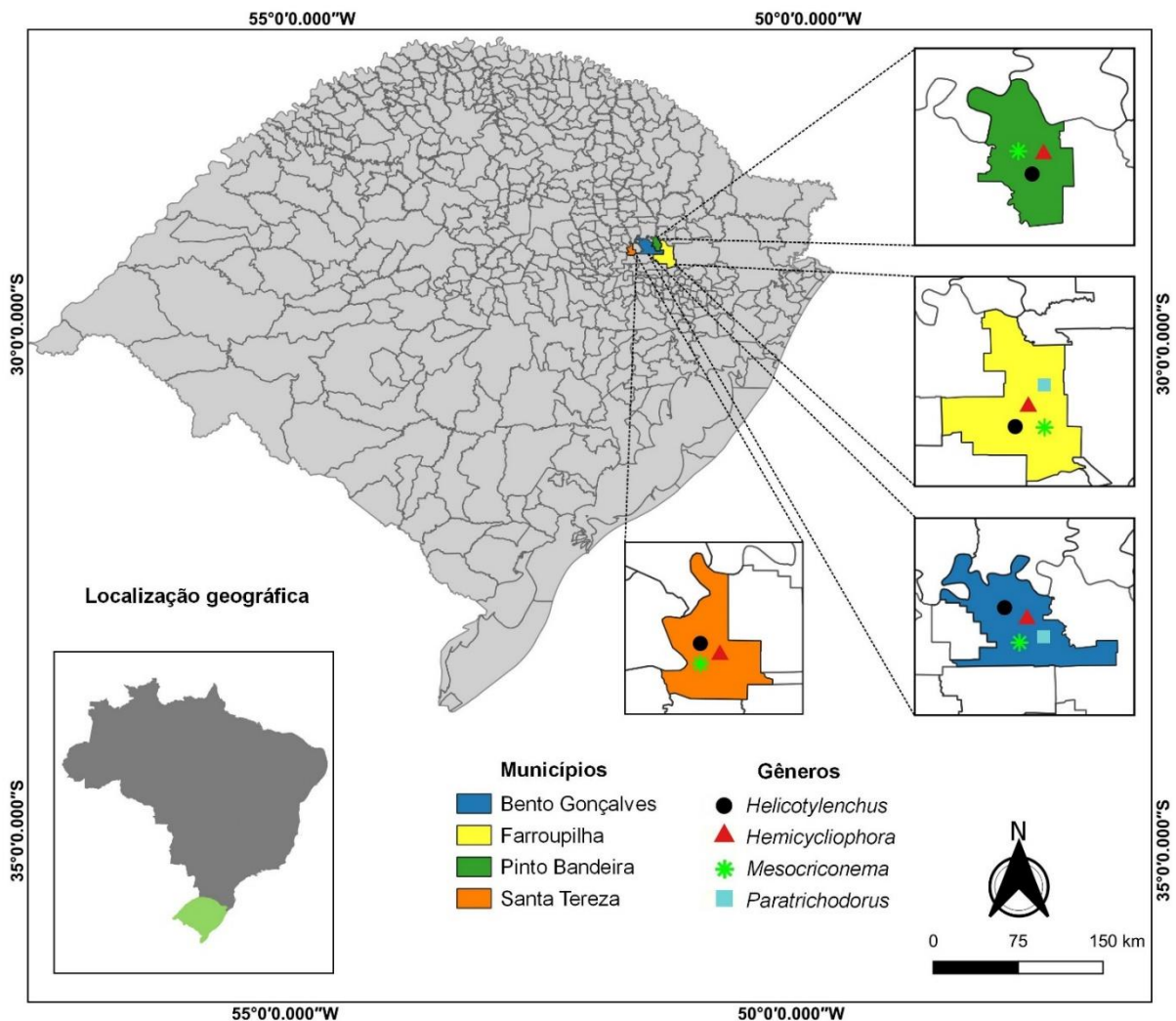
No presente estudo, foram detectados fitonematoides em todos os vinhedos amostrados, representantes de sete famílias (Pratylenchidae, Trichodoridae, Criconematidae, Tylenchidae, Longidoridae, Hemicycliophoridae e Hoplolaimidae) e sete gêneros (*Helicotylenchus* Steiner, 1945, *Mesocriconema* Andrassy, 1965, *Hemicycliophora* de Man, 1921, *Xiphinema* Cobb, 1913, *Tylenchus* Bastian, 1865, *Paratrichodorus* Siddiqi, 1974, e *Pratylenchus*) (Tabela 19).

**Tabela 14.** Densidades populacionais de fitonematoides detectados em vinhedos nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.

Município	Sintoma	Gêneros e número de nematoides/250cm <sup>3</sup> de solo						
		<i>Helicotylenchus</i>	<i>Hemicycliophora</i>	<i>Mesocriconema</i>	<i>Paratrichodorus</i>	<i>Pratylenchus</i>	<i>Tylenchus</i>	<i>Xiphinema</i>
Bento	Sim	200,0 ± 26,5 <sup>1</sup>	153,3 ± 23,1	480,00 ± 20,0	113,3 ± 5,8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Gonçalves	Não	133,3 ± 15,3	96,7 ± 5,8	110,00 ± 10,0	53,3 ± 5,8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Farroupilha	Sim	286,7 ± 5,8	136,7 ± 5,8	166,67 ± 11,5	46,7 ± 5,8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	Não	166,7 ± 15,3	93,3 ± 5,8	66,67 ± 11,5	20,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Pinto	Sim	213,3 ± 15,3	146,7 ± 5,8	126,67 ± 5,8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Bandeira	Não	163,3 ± 5,5	30,0 ± 10,0	0,00 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Santa	Sim	170,0 ± 10,0	103,3 ± 20,8	176,67 ± 5,8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Tereza	Não	113,3 ± 20,8	46,7 ± 5,8	33,33 ± 5,8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Pinheiro	Sim	203,3 ± 15,3	0,0 ± 0,0	90,00 ± 10,0	0,0 ± 0,0	160,0 ± 10,0	0,0 ± 0,0	60,0 ± 0,0
Preto	Não	140,0 ± 10,0	0,0 ± 0,0	0,00 ± 0,0	0,0 ± 0,0	76,7 ± 5,8	0,0 ± 0,0	43,3 ± 5,8
Videira	Sim	236,7 ± 15,3	86,7 ± 11,6	96,67 ± 5,8	96,7 ± 5,8	153,3 ± 5,8	200,0 ± 20,0	36,7 ± 11,5
	Não	180,0 ± 10,0	33,3 ± 5,8	43,33 ± 15,3	76,7 ± 5,8	56,7 ± 5,8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Tangará	Sim	316,7 ± 25,2	40,0 ± 0,0	83,33 ± 5,8	0,0 ± 0,0	180,0 ± 17,3	80,0 ± 10,0	66,7 ± 11,5
	Não	146, ± 5,8	0,0 ± 0,0	36,67 ± 5,8	0,0 ± 0,0	70,0 ± 10,0	0,0 ± 0,0	30,0 ± 0,0
Freq. (%)	Sim	100,0	85,7	100,0	57,1	42,9	28,6	28,6
	Não	100,0	71,4	71,4	57,1	42,9	0,0	0,0

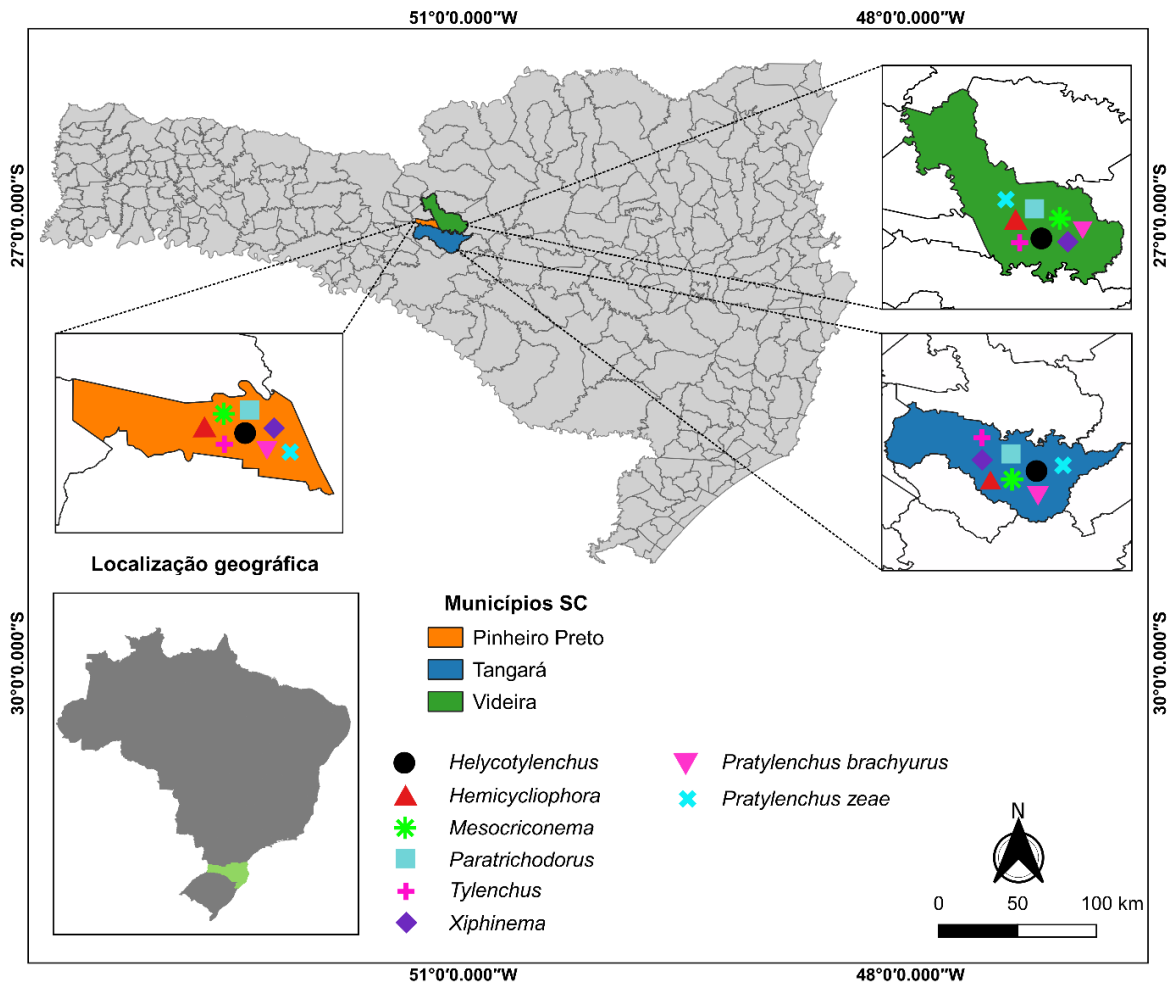
<sup>1</sup>Médias ± desvio padrão

No geral, as densidades populacionais dos nematoides em cada vinhedo variaram de 0 a 480 no Rio Grande do Sul e de 0 a 317 para Santa Catarina, dependendo do gênero. As maiores densidades populacionais dos fitonematoides detectados foram observadas em amostras de plantas sintomáticas, tanto no Rio Grande do Sul, quanto em Santa Catarina. O gênero de maior frequência, tanto em plantas sintomáticas quanto em assintomáticas, foi *Helicotylenchus* (100,0%), seguido por *Mesocriconema* (100,0% e 71,43%) e *Hemicycliophora* (85,47% e 71,43%). Para o gênero *Pratylenchus*, foi observada uma frequência de 42,14% em amostras de vinhedos de Santa Catarina. Apenas os gêneros *Helicotylenchus*, *Mesocriconema* e *Hemicycliophora* foram detectados nos vinhedos dos dois estados (Figuras 17 e 18).



**Figura 17.** Localização e distribuição espacial dos gêneros de fitonematoides, por municípios, em vinhedos da região da Serra Gaúcha, Rio Grande do Sul.



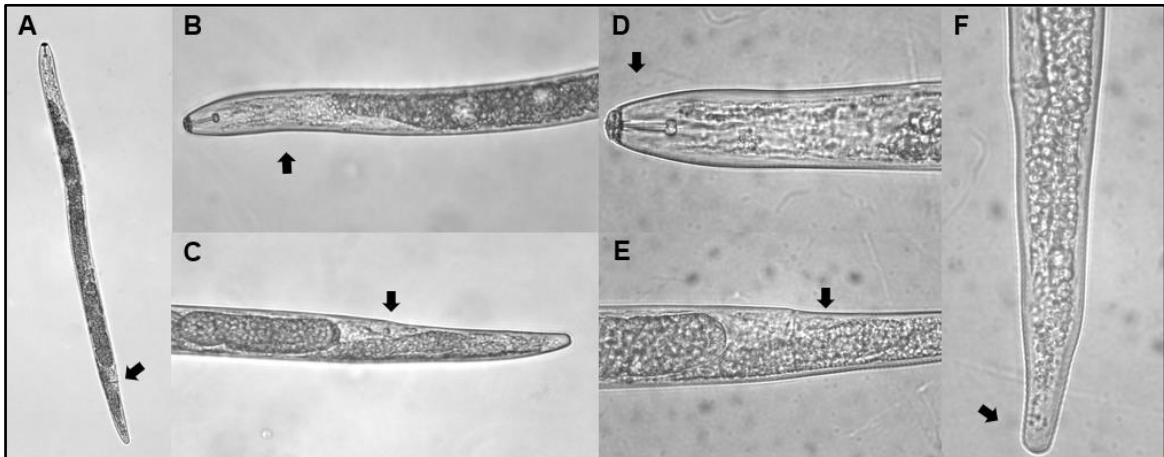


**Figura 18.** Localização e distribuição espacial dos gêneros de fitonematoides, por municípios, em vinhedos da região da Rota dos Vinhedos, Santa Catarina.

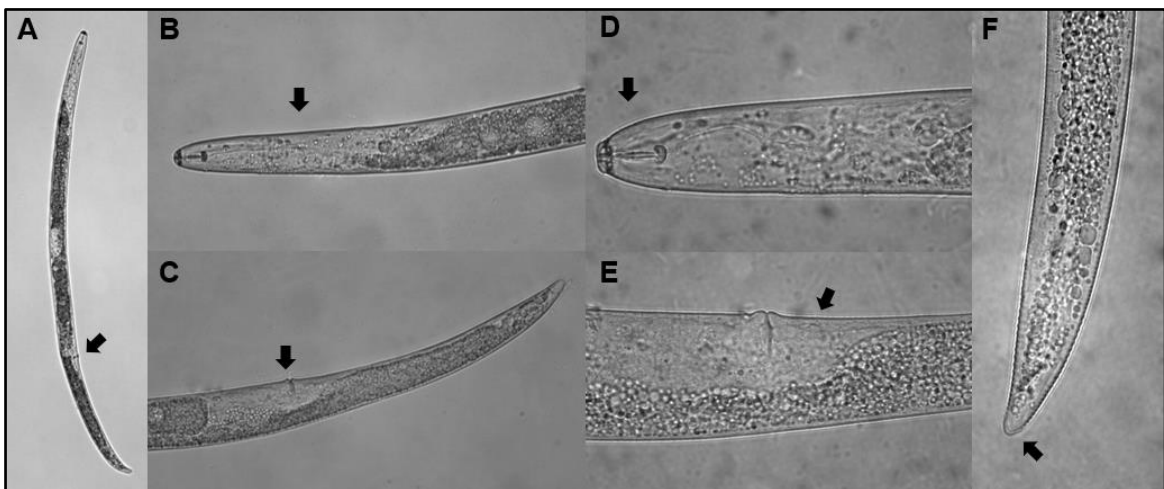
Os gêneros de fitonematoides detectados neste estudo também foram relatados em levantamentos realizados por Kuhn (2015) e Divers et al., (2019) no Sul do Brasil, entretanto, os autores também relataram a presença dos gêneros *Meloidogyne*, *Aphelenchus* Bastian, 1865, *Ogma* Southern, 1914, e *Trichodorus* Cobb, 1913. Nos EUA, além dos gêneros citados acima, Zasada et al., (2012) relataram frequência de 83% para gênero *Paratylenchus* Micoletzky, 1922. Semelhantemente, Gomes, Campos e Costa (2009) relataram a presença de onze gêneros em vinhedos da Serra Gaúcha, entre eles, *Mesocriconema*, com 100% de frequência, seguido por *Meloidogyne* spp. (82%) e *Tylenchus* (82%).

Dentro do gênero *Pratylenchus*, duas espécies foram identificadas nos pomares de Santa Catarina, a saber: *P. brachyurus* e *P. zeae* (Figura 19 e 20). Na

Tabela 20 encontram-se os dados relativos às 25 variáveis resultantes das mensurações diretas, proporções alométricas e percentagens, derivadas das duas espécies identificadas. Assim como relatado em outros estudos de identificação de *P. brachyurus* e *P. zaeae*, os menores coeficientes de variação foram observados para as variáveis V%, comprimento do estilete e largura da região labial, confirmando a estabilidade e a importância destas variáveis para a identificação das duas espécies em questão (MACHADO et al. 2015; JESUS et a., 2020).



**Figura 19.** *Pratylenchus brachyurus*. A) Fêmea adulta e indicação da posição da vulva. B) Região anterior do corpo (região esofagiana). C) Região posterior do corpo (posição da vulva). D) Região labial e estilete. E) Saco pós-uterino. F) Cauda arredondada.



**Figura 20.** *Pratylenchus zaeae*. A) Fêmea adulta e indicação da posição da vulva. B) Região anterior do corpo (região esofagiana). C) Região posterior do corpo (posição da vulva). D) Região labial e estilete. E) Saco pós-uterino. F) Cauda truncada

**Tabela 15.** Mensurações ( $\mu\text{m}$ ) e proporções de 20 fêmeas dos isolados de espécies de *Pratylenchus* coletadas em vinhedos com sintomas de declínio no em Santa Catarina.

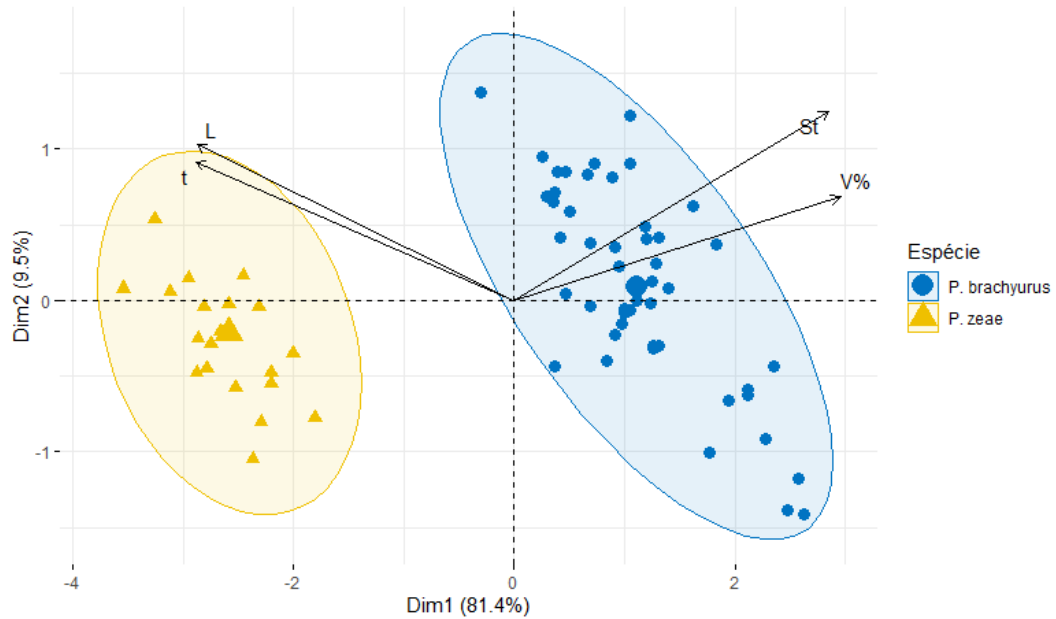
Medidas	Média (Mínimo-Máximo)	
	<i>P. brachyurus</i>	<i>P. zeae</i>
L	667,4 (598,31-705,6)	622,8 (538,5-685,4)
ØLb	8,8 (8,1-9,3)	8,8 (7,8-9,6)
AltLb	4,0 (3,7-4,2)	2,2 (2,1-2,5)
St	19,8 (19,4-20,3)	16,8 (15,7-17,8)
NLb	2,0 (2,0-2,0)	3,0 (3,0-3,0)
ØbSt	4,9 (4,2-5,3)	5,0 (4,5-5,7)
AbSt	3,5 (3,3-3,7)	2,6 (2,7-3,0)
DGO	3,0 (2,8-3,2)	3,0 (2,6-3,1)
Ø	31,8 (28,6-36,7)	28,9 (24,9-32,8)
V	591,1 (498,5-618,3)	421,1 (391,5-472,7)
Oes	75,7 (64,3-80,2)	78,4 (65,9-102,8)
VB	23,8 (20,8-29,5)	26,8 (21,7-31,2)
VA	59,1 (42,8-63,7)	137,1 (124,4-150,3)
Øa	18,2 (15,8-20,7)	15,9 (13,3-17,9)
T	33,2 (29,4-37,6)	36,8 (31,9-43,8)
<b>Proporções</b>	-	-
ØLb/ AltLb	2,2 (2,0-2,3)	3,7 (3,2-4,1)
a	19,5 (18,0-22,6)	21,0 (18,9-23,4)
b	9,1 (8,3-11,2)	8,4 (6,2-9,2)
c	19,6 (16,7-26,8)	16,8 (15,4-19,6)
c'	2,0 (1,6-2,4)	2,2 (1,6-2,6)
<b>Porcentagem</b>	-	-
V%	85,5 (82,5-88,0)	71,4 (69,0-72,1)
St%L	3,4 (2,3-3,7)	2,6 (2,3-2,9)
St%Oes	23,3 (18,22-26,8)	21,4 (17,1-22,3)
<b>Morfologia</b>	-	-
Bulbos St	Arredondados	Achatados
Cauda	Truncada	Arredondada

Quanto aos caracteres morfológicos, *P. brachyurus* apresentou cauda em formato truncado e bulbos do estilete arredondados. Por outro lado, a cauda de *P. zae* foi classificada como arredondada e os bulbos do estilete achatados. No presente estudo, as variáveis em análise tiveram seus valores médios dentro na faixa relatada, para ambas as espécies, de acordo com as descrições originais e estudos adicionais (GODFREY, 1929; GRAHAM, 1951; LOOF, 1960). A variabilidade intraespecífica é apontada como um impasse para a taxonomia deste grupo, embora o gênero seja facilmente reconhecido (CASTILLO; VOLVAS, 2007). Na prática, os caracteres utilizados para identificação de espécies de *Pratylenchus* é altamente variável, sendo necessária a análise de um número elevado de caracteres para a correta identificação.

Conforme a análise de componentes principais, foi observada baixa variabilidade morfométrica intraespecífica, principalmente para a espécie *P. zae* (Figura 21). A percentagem da variância explicada pelos dois primeiros componentes principais (CP), gerados a partir de medidas de fêmeas das duas espécies, foi aproximadamente 91%. O primeiro componente principal (PC1) foi positivo para duas variáveis (comprimento do estilete e V%) enquanto PC2 foi positivo para comprimento do corpo, comprimento do estilete, V% e comprimento da cauda.

As duas espécies identificadas neste estudo foram agrupadas em grupos diferentes, confirmando assim a identificação preliminar. Adicionalmente, tanto *P. brachyurus* quanto *P. zae* deste estudo alinharam-se aos espécimes correspondentes, descritos em outros estudos (BONFIM et al., 2012; FLIS, et al., 2018; SOUZA JR; ASSUNÇÃO, 2022). Esta análise permitiu observar correspondência entre os caracteres analisados e a classificação, *a priori*, em nível de espécie, ratificando o valor taxonômico das variáveis. Neste sentido, a análise de PCA foi extremamente importante para o entendimento das relações morfométricas entre as populações e para confirmar a presença das duas espécies em vinhedos com sintomas de declínio.

Os primeiros registros de fitonematoides parasitando a cultura da videira são datados de 1880 (NEAL, 1889). Embora os relatos iniciais façam referência exclusivamente aos nematoides-das-galhas (*Meloidogyne* spp.), devido ao fácil reconhecimento das galhas nas raízes parasitadas, no presente estudo foi demonstrado que mesmo em plantas assintomáticas são detectados fitonematoides e a expressão dos sintomas pode estar associada ao nível populacional, reforçando a importância de levantamentos e determinação de limiar de dano.



**Figura 21.** Biplot obtido a partir de dados morfométricos de populações de *Pratylenchus* submetidas à Análise de Componentes Principais (ACP). L (comprimento do corpo), St (comprimento do estilete), V% (posição da vulva como porcentagem do corpo) e t (comprimento da cauda).

Entre os fitonematoides identificados, pelo menos três gêneros têm sido associados a danos e perdas em polos vitícolas nos Estados Unidos, Chile, Espanha e Austrália (TÉLIZ et al. 2007; STOREY; MALAN; HUGO, 2017; JAGDALE et al., 2019). Nestas regiões, fitonematoides dos gêneros *Meloidogyne*, *Xiphinema* e *Mesocriconema* foram relatados em altos níveis populacionais e incidência. No entanto, o limiar de dano para a tomada de decisão de controle de fitonematoides ainda é tema de discussão. Segundo estudos das Universidades de Washington, Idaho e Oregon (2022), o limiar depende da idade das plantas e da região, por exemplo, para o nematoide-anelado, o limiar varia de 50 nematoides/cm<sup>3</sup> de solo para plantas jovens a 300 nematoides/cm<sup>3</sup> para vinhedos estabelecidos, porém esta última depende da região e clima.

A diversidade e a abundância de fitonematoides que se estabelecem em um vinhedo é determinada pela população presente no solo no momento do plantio e (ZASADA et al., 2012), por este motivo, o levantamento da nematofauna é essencial para evitar potenciais danos causados por estes patógenos, visto que, uma vez estabelecida, a infestação de solos por fitonematoides é permanente.

Os nematoides-das-lesões-radiculares são comumente encontrados em vinhedos, embora em muitos casos não tenha havido tentativa de identificar esses nematoides a nível de espécie (QUADER; RILEY; WALKER, 2003; ZASADA et al., 2012; JAGDALE et al., 2019). Nos estudos onde foi realizada a classificação de espécies de *Pratylenchus* associadas a videira, poucas espécies foram identificadas e uma minoria foi testada quanto à sua patogenicidade e ao status de hospedeiro da cultura (FERRIS; ZHENG; WALKER, 2012; PUERARI, et al., 2012; SANTOS et al., 2019). Até os dias atuais, *P. vulnus* é a espécie que recebeu a maior atenção da pesquisa devido a sua ampla distribuição nos Estados Unidos, Espanha e Austrália (HOWLAND; SCHREINER; ZASADA, 2014). Além de *P. vulnus*, *P. brachyurus* e *P. zaeae*, as demais espécies possuem distribuição limitada ou estão associadas principalmente às coberturas de solo utilizadas nos vinhedos (ZASADA; FERRIS; MCKENRY, 2015).

Os danos causados pelo nematoide-das-lesões-radiculares na cultura da videira são altamente destrutivos devido ao seu tipo de parasitismo (endoparasita migrador) e, uma vez que o declínio se instala, as plantas não respondem às práticas culturais destinadas a recuperação. Raízes parasitadas apresentam pontos necróticos de vários tamanhos, redução do vigor, além de baixo desenvolvimento radicular e queda na produção. Alguns dos trabalhos focando danos em videira, referem-se a espécies de clima temperado como *P. vulnus*, principalmente na Europa e EUA (TÉLIZ et al., 2007; FERRIS; ZHENG; WALKER, 2012). Já para espécies de clima predominantemente tropical e subtropical como *P. brachyurus* e *P. zaeae*, depara-se com a escassez de estudos relacionados a sua patogenicidade em *Vitis* spp., bem como a caracterização do status de hospedeiro dos principais porta-enxertos utilizados no Sul do Brasil, incluindo o estudo de Santos et al., (2019). Nesse trabalho os autores avaliaram a resistência de parentais de *V. vinifera* e *V. rotundifolia* a *P. brachyurus*, porém, apesar de incluídos vários parâmetros relacionados a herdabilidade e desenvolvimento das plantas inoculadas, não foram incluídos porta-enxertos de uso corrente no Brasil.

#### **4.3.2. Reação de genótipos de videira a *Pratylenchus brachyurus***

Os dados referentes às populações finais e fatores de reprodução (FR) de *P. brachyurus*, e, reação dos genótipos estão apresentados na Tabela 21. Para as

duas primeiras variáveis, verificou-se interação significativa entre os fatores genótipo e inoculação ( $P < 0,0001$ ). Os elevados valores populacionais do nematoide (*Pf*) e de FR, principalmente para o porta-enxerto Paulsen 1103, atestam para a viabilidade da população utilizada para as condições apropriadas, nas quais o ensaio do desenvolvido.

Para as condições desse estudo, o porta-enxerto Paulsen 1103 e a cultivar copa Chardonnay comportaram-se como altamente suscetível ( $68,0 > FR < 183,0$ ); e os porta-enxertos IAC 313 Tropical, Salt Creek e Gravesac, além da cultivar copa Bordô, como suscetíveis ( $\approx 7,98 > FR < 23,06$ ) a *P. brachyurus*. Quatro porta-enxertos comportaram-se como imunes ( $FR = 0,0$ ), a saber: VR043-43, IBCA 125, 548-44 e 1111-21. Os demais genótipos apresentaram variação nos valores de FR (8,16 a 67,98), em uma clara indicação de suscetibilidade.

**Tabela 21.** População final (solo e raiz), fator de reprodução (FR) e reação de genótipos de videira a *P. brachyurus*, sob condições de casa de vegetação.

Genótipo	População final	FR	Reação
Paulsen	183.061,1 a <sup>1/</sup>	183,0 a	S <sup>2/</sup>
IAC 313 Tropical	23.060,0 c	23,1 c	S
Salt Creek	8.950,0 d	9,0 d	S
Gravesac	6.825,0 d	6,8 d	S
VR043-43	0,0 e	0,0 e	I
IBCA125	0,0 e	0,0 e	I
548-44	0,0 e	0,0 e	I
1111-21	0,0 e	0,0 e	I
Bordô	8.163,0 d	8,2 d	S
Chardonnay	67.982,0 b	68,0 b	S
CV (%)	16,15	16,11	-

<sup>1/</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott- Knott ( $p \leq 0,05$ ) comparando os diferentes genótipos. <sup>2/</sup>Reação de resistência/ suscetibilidade, segundo Oostenbrink (1966). **S**: suscetível, **R**: resistente e **I**: imune.

Em relação ao desenvolvimento das plantas, os valores médios das variáveis analisadas encontram-se na Tabela 22. Verificou-se interação significativa entre os fatores para as variáveis massa fresca da parte aérea (MFPA) ( $P < 0,0393$ ), massa fresca de raiz (MFRA) ( $P < 0,0001$ ), teor de clorofila total ( $P \leq 0,0083$ ) e teor de carotenoides ( $P < 0,00107$ ). Para massa fresca da parte aérea de plantas inoculadas e não inoculadas com *P. brachyurus*, foram observadas diferenças significativas para os genótipos Paulsen 1103, IAC313, Salt Creek e Bordô e Chardonnay, com reduções entre 48,9 e 34,4% nas plantas inoculadas. Na comparação entre os genótipos, Chardonnay, Bordô e Salt Creek apresentaram as menores massas de parte aérea, não diferindo, estatisticamente, de Paulsen 1103 e IAC313.

Para MFRA, a semelhança dos resultados para parte aérea, houve expressiva redução nos valores dessa variável nos porta-enxertos Paulsen 1103, IAC313 Tropical e Salt Creek e nas cultivares copa Bordô e Chardonnay, cuja maior interferência foi observada nos dois primeiros porta-enxertos, resultando em 66,0 e 55,6% de redução, quando comparado ao material não infectado. Por outro lado, a menor interferência de *P. brachyurus* sobre a variável em questão foi observada no genótipo Gravesac (2,6% de redução). Comparando os diferentes materiais, em plantas infectadas, IAC313 apresentou as menores massas de raízes, porém não diferiu estatisticamente dos demais genótipos classificados como suscetíveis. Ainda em relação ao sistema radicular, em plantas não inoculadas, o porta-enxerto Paulsen 1103 apresentou a maior massa fresca de raiz e, para a mesma variável, os menores valores foram observados em Gravesac e Bordô. Já nas plantas inoculadas, Paulsen 1103 se destacou com elevado FR, diferentemente de Gravesac e Bordô que apresentaram os menores FR.

Quanto aos teores de clorofila total e carotenoides em materiais suscetíveis, ao contrário do que foi observado para massa fresca de parte aérea e raiz, o porta-enxerto Paulsen 1103 e a cultivar copa Chardonnay apresentaram aumento de 23,9 e 40,7% e 31,3 e 23,5% para clorofila total e carotenoides, respectivamente. Para estas variáveis, independentemente da inoculação, não foram observadas diferenças significativas para Bordô e Gravesac. Os porta-enxertos IAC313 e Salt Creek apresentaram reduções de 35,4 e 21,0% nos teores de clorofila total e de 18,2 e 14,2% nos teores de carotenoides. Nos genótipos suscetíveis, na presença do nematoide, IAC313 e Gravesac apresentaram os menores teores de clorofila total, seguidos por Chardonnay. Para carotenoides, os menores teores foram observados em IAC313 e Gravesac, não diferindo de genótipo imune 548-44.



**Tabela 16.** Massa fresca da parte aérea e raízes, teores de clorofila total e carotenoides em genótipos de videira inoculados (+N) e não inoculados (-N) com *P. brachyurus*, sob condições de casa de vegetação.

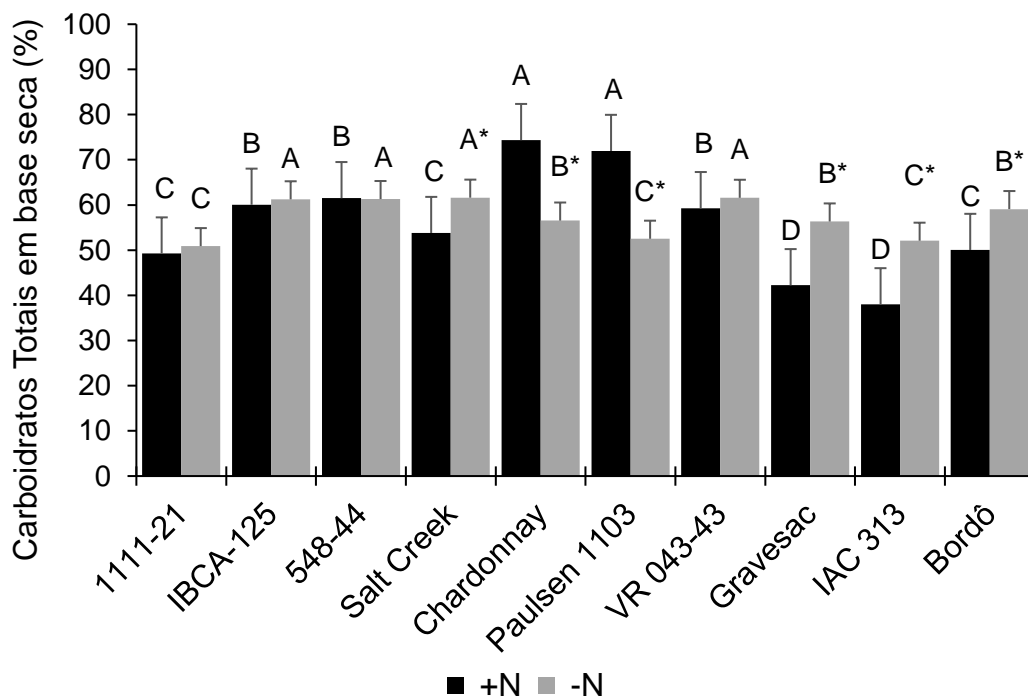
Genótipo	MFPA (g)		MFRA (g)	
	-N	+N	-N	+N
Paulsen	68,75 a <sup>*1/</sup>	43,33 b	117,50 a*	40,00 b
IAC313	76,25 a*	50,00 b	62,00 c*	27,50 c
Salt Creek	67,50 a*	37,50 c	65,00 c*	36,25 c
Gravesac	66,25 a	66,25 a	47,50 c	46,25 b
VR043-43	65,00 a	62,50 a	86,25 b	85,00 a
IBCA125	66,25 a	65,00 a	53,75 c	48,75 b
548-44	76,25 a	73,75 a	88,75 b	73,75 a
1111-21	86,25 a	80,00 a	51,25 c	50,00 b
Bordô	56,67 b*	35,00 c	50,00 c*	30,00 c
Chardonnay	58,75 b*	30,00 c	87,50 b*	37,50 c
CV (%)	17,37	22,65	15,53	23,18

Genótipo	CFL (mg/g massa fresca)		CRT (mg/g massa fresca)	
	-N	+N	-N	+N
Paulsen	0,67 d*	0,88 b <sup>1/</sup>	0,11 c*	0,16 a
IAC313	0,79 c*	0,51 d	0,11 c*	0,09 c
Salt Creek	1,00 b*	0,79 b	0,14 b	0,12 b
Gravesac	0,70 d	0,49 d	0,10 c	0,09 c
VR043-43	1,00 b	0,96 a	0,13 b	0,12 b
IBCA125	0,97 b	0,95 a	0,15 a	0,15 a
548-44	0,63 d	0,61 c	0,11 c	0,12 b
1111-21	0,89 c	0,79 b	0,13 b	0,13 b
Bordô	1,23 a	1,04 a	0,17 a	0,17 a
Chardonnay	0,64 d*	1,08 a	0,13 b*	0,17 a
CV (%)	15,28	21,37	15,25	12,86

<sup>1/</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) comparando os diferentes genótipos. Médias seguidas por (\*) na linha diferem entre si pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando plantas inoculadas (+N) e não inoculadas (-N).

Na figura 22 estão representados os teores de carboidratos totais (CHT). Para esta variável também foi constatada interação significativa entre os genótipos e inoculação com *P. brachyurus* ( $P < 0,0075$ ). Como observado para as variáveis de desenvolvimento das plantas, constatou-se influência negativa do parasitismo de *P. brachyurus* nos teores de CHT. Entre os genótipos suscetíveis, as reduções variaram de 15,3 a 27,0%, sendo 'Bordô' o menos afetado.



**Figura 22.** Teores de carboidratos totais em base seca em genótipos de videira inoculados (+N) e não inoculados (-N) com *P. brachyurus*, sob condições de casa de vegetação. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) comparando os diferentes genótipos. Médias seguidas por um asterisco (\*) não diferem entre si pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando plantas inoculadas e não inoculadas (+N e -N). Barras verticais representam a média  $\pm$  o desvio padrão.

Comparando os genótipos inoculados ou não, o porta-enxerto IAC 313 Tropical apresentou o menor teor de CHT tanto em plantas inoculadas (38,0%) como em não inoculadas (52,1%), embora, dentro desse mesmo genótipo o efeito negativo da inoculação tenha sido significativo. Por outro lado, para os demais genótipos

suscetíveis (Paulsen 1103 e Chardonnay), observaram-se aumento dos teores de CHT. A cultivar copa Chardonnay apresentou os maiores teores de CHT em plantas inoculadas (74,4%) e o porta-enxerto Salt Creek, em plantas não inoculadas (61,6%). O comportamento nos teores de CHT atestam o efeito negativo do patógeno para esta variável, visto que não foram observadas alterações significativas nos genótipos que se comportaram como imunes.

A análise de correlação de Pearson (Tabela 23), independente do genótipo, reforça o efeito negativo do parasitismo de *P. brachyurus* sobre as variáveis estudadas. Em plantas inoculadas, o FR apresentou correlação negativa significativa ( $P < 0,05$ ) com teor de CHT ( $r = -0,42$ ;  $P = 0,013$ ), massa fresca da parte aérea ( $r = -0,70$ ;  $P = 0,005$ ), massa fresca de raiz ( $r = -0,88$ ;  $P = 0,008$ ), clorofila total ( $r = -0,57$ ;  $P = 0,036$ ) e teor de carotenoides ( $r = -0,68$ ;  $P < 0,0001$ ). Também foi possível constatar correlação negativa entre as variáveis de desenvolvimento entre plantas inoculadas e não inoculadas. Para clorofila total, por exemplo, houve forte correlação negativa ( $r = -0,91$ ;  $P = 0,025$ ) com o teor de CHT, evidenciando que esta variável é fortemente influenciada pela presença do nematoide-das-lesões-radiculares. Por outro lado, observou-se correlação positiva entre as variáveis de plantas inoculadas, como por exemplo entre a massa fresca da parte aérea e clorofila total ( $r = 0,79$ ;  $P = 0,025$ ), indicando que as duas variáveis são, ao mesmo tempo, influenciadas pelo parasitismo do nematoide.

Cabe destacar que a fraca correlação negativa entre o FR e o teor de CHT, em plantas inoculadas, pode ter sido influenciado pelo comportamento de Paulsen 1103 e Chardonnay, os quais apresentaram os maiores valores de FR e aumento do teor de CHT. A assertiva anterior é confirmada ao analisar as correlações de Pearson para cada genótipo (Tabela 24). Analisando Paulsen 1103 e Chardonnay, observa-se que houve forte correlação negativa entre o teor de CHT e a massa fresca da parte aérea ( $r = -0,96$  e  $-0,69$ ;  $P = 0,018$  e  $0,048$ ) e de raiz ( $r = -0,99$  e  $-0,63$ ;  $P = 0,004$  e  $0,023$ ) e forte correlação positiva, entre o teor de CHT e FR ( $r = 0,91$  e  $0,95$ ;  $P = 0,042$  e  $0,019$ ). Além disso, houve correlação negativa entre clorofila total e massa fresca da parte aérea ( $r = -0,78$  e  $-0,63$ ;  $P = 0,043$  e  $0,016$ ) e de raiz ( $r = -0,57$  e  $-0,96$ ;  $P = 0,014$  e  $0,026$ ), comportamento também observado entre as variáveis carotenoides e massa fresca da parte aérea ( $r = -0,99$  e  $-0,50$ ;  $P = 0,031$  e  $0,007$ ) e de raiz ( $r = -0,95$  e  $-0,76$ ;  $P = 0,021$  e  $0,046$ ).

**Tabela 23.** Coeficientes de correlação de Pearson para as variáveis analisadas de genótipos de videira inoculados (+N) e não-inoculados (-N) com *Pratylenchus brachyurus*, sob condições de casa de vegetação.

Variável	Inoculadas (+N)					Não-inoculadas (-N)					
	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT
CHT	1,00	0,42 <sup>1/</sup>	0,48	0,58	0,57	-0,42	-0,65	-0,77	-0,64	-0,91	-0,50
MFPA		1,00	0,45	0,79	0,65	-0,70	-0,69	-0,69	-0,68	-0,53	-0,54
MFRA			1,00	0,10	0,08	-0,88	-0,85	-0,75	-0,80	-0,36	-0,27
CLF				1,00	0,95	-0,57	-0,76	-0,69	-0,48	-0,57	-0,95
CRT					1,00	-0,68	-0,54	-0,48	-0,30	-0,61	-0,87
FR						1,00	-	-	-	-	-
CHT							1,00	0,58	0,82	0,75	0,02
MFPA								1,00	0,61	0,46	0,53
MFRA									1,00	0,16	0,24
CLF										1,00	0,94
CRT											1,00

<sup>1/</sup>Coeficientes de correlação de Pearson. Correlações significativas positivas (roxo) e negativas (amarelo) variam na intensidade da cor de acordo com o coeficiente de correlação (0,0≤0,3 claro, 0,31≤0,65 intermediário e 0,66≤1,0 intenso). Quadrantes em branco representam correlações não significativas. **CHT**: Carboidratos totais; **MFPA**: Massa fresca da parte aérea; **MFRA**: Massa fresca da raiz; **CLF**: Clorofila total; **CRT**: Carotenoides; **FR**: Fator de reprodução do nematoide. Valores de *P* podem ser consultados em Anexos

**Tabela 24.** Coeficientes de correlação de Pearson para as variáveis analisadas de quatro genótipos de videira inoculados com *Pratylenchus brachyurus*, sob condições de casa de vegetação.

Variável	Paulsen 1103						Gravesac					
	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR
CHT	1,00	-0,96 <sup>1/</sup>	-0,99	0,69	0,94	0,91	1,00	0,72	0,66	0,65	0,81	-0,99
MFPA		1,00	0,96	-0,78	-0,99	-0,94		1,00	0,84	0,63	0,80	-0,60
MFRA			1,00	-0,57	-0,95	-0,85			1,00	0,71	0,89	-0,68
CLF				1,00	0,81	0,77				1,00	0,95	-0,67
CRT					1,00	0,77					1,00	-0,68
FR						1,00						1,00

Variável	Chardonnay						Salt Creek					
	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR
CHT	1,00	-0,69	-0,93	0,82	0,94	0,95	1,00	0,69	0,85	0,77	0,88	-0,68
MFPA		1,00	0,88	-0,63	-0,50	-0,93		1,00	0,92	0,63	0,48	-0,84
MFRA			1,00	-0,96	-0,76	-0,98			1,00	0,44	0,99	-0,94
CLF				1,00	0,56	0,95				1,00	0,48	-0,87
CRT					1,00	0,79					1,00	-0,94
FR						1,00						1,00

<sup>1/</sup>Coeficientes de correlação de Pearson. Correlações significativas positivas (roxo) e negativas (amarelo) variam na intensidade da cor de acordo com o coeficiente de correlação (0,0≤0,3 claro, 0,31≤0,65 intermediário e 0,66≤1,0 intenso). **CHT**: Carboidratos totais; **MFPA**: Massa fresca da parte aérea; **MFRA**: Massa fresca da raiz; **CLF**: Clorofila total; **CRT**: Carotenoides; **FR**: Fator de reprodução do nematoide. Valores de *P* podem ser consultados em Anexos.

Por outro lado, os genótipos Gravesac e Salt Creek, demonstraram correlação positiva entre o teor de CHT e massa fresca da parte aérea ( $r = 0,72$  e  $0,69$ ;  $P = 0,037$  e  $0,030$ ) e de raiz ( $r = 0,66$  e  $0,85$ ;  $P = 0,044$  e  $0,015$ ) e correlação negativa entre teor de CHT e FR ( $r = -0,99$  e  $-0,68$ ;  $P = 0,029$  e  $0,007$ ). Nestes porta-enxertos, as variáveis clorofila total e carotenoides mostraram-se altamente dependentes do fator de reprodução pois, quando o fator de reprodução foi elevado, os teores de clorofila e carotenoides reduziram e, por outro lado, quando o fator de reprodução foi menor, houve aumento das variáveis em questão.

Puerari et al. (2012) estudando a reação de oito genótipos de videira a *P. brachyurus* e *P. zaeae* verificaram que todos os materiais testados foram imunes às duas espécies. No referido estudo, todos os genótipos eram provenientes de cruzamentos interespecíficos, frequentemente utilizados para adaptação e a resistência de porta-enxertos a doenças e pragas (COUSINS et al., 2003; FERRIS; ZHENG; WALKER, 2012). Além disso, quatro dos genótipos estudados já possuíam conhecida resistência a outros fitonematoides, como *M. arenaria*, *M. javanica*, *M. incognita*, *T. semipenetrans* e *P. vulnus* (McKENRY et al., 2001; FERRIS; ZHENG; WALKER, 2012).

Nenhum dos genótipos utilizados neste estudo possuía reação conhecida a *P. brachyurus*. As raras informações disponíveis sobre estes materiais relatam a reação a outros fitonematoides, principalmente do gênero *Meloidogyne*. O porta-enxerto Paulsen 1103, por exemplo, mais utilizado no Sul do Brasil, é também suscetível a *P. vulnus* e *M. arenaria*, porém resistente a *M. javanica* e *M. incognita*, porém suscetível a *M. arenaria*. O porta-enxerto IAC 313 Tropical, embora tenha se comportado como suscetível a *P. brachyurus* no presente estudo, possui resistência a *M. javanica*, *M. incognita*, *M. arenaria* e *M. enterolobii*. Por outro lado, a cultivar copa Chardonnay é suscetível a todas as espécies citadas anteriormente, além de altamente suscetível a *M. ethiopica*, uma espécie altamente agressiva a videira no Chile (CARNEIRO et al., 2007; MAGUNACELAYA; MANCILLA; GONZÁLEZ-BERNAL, 2017). Similarmente, porta-enxerto de clima temperado Salt Creek, apesar de ter se comportado como suscetível ao nematoide-das-lesões-radiculares, é resistente a *Xiphinema* spp., *M. incognita* e *M. arenaria*, e imune a *M. javanica* e *M. enterolobii*. Os demais genótipos não possuem reação definida para os principais gêneros de fitonematoides (SOMAVILLA, 2011; SCHREINER et al., 2012; FERRIS; ZHENG; WALKER, 2012). É importante ressaltar que a reação de resistência a nematoides do gênero *Meloidogyne* não necessariamente implica na resistência a *P. brachyurus*, como observado aqui,

pois são nematoides com hábito de parasitismo completamente diferentes e, portanto, os mecanismos que regulam a resistência também são distintos (SAUCET et al., 2016; VIEIRA et al., 2019).

Amplamente difundido entre os viticultores do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, devido à sua alta tolerância à fusariose, vigor, facilidade de enraizamento e compatibilidade na enxertia (CAMARGO, 2008), a utilização do porta-enxerto para clima temperado, Paulsen 1103, deve ser minuciosamente avaliada em áreas com histórico de fitonematoides, visto que este genótipo apresentou fator de reprodução extremamente elevado a *P. brachyurus*, nas condições deste estudo. Isso vale para IAC 313, que apesar de sua alta adaptabilidade a quase todas as regiões brasileiras, alto enraizamento e alta resistência ao míldio e à filoxera (CAMARGO, 2008), mostrou-se altamente suscetível ao nematoide, reforçando a importância deste estudo e da realização de levantamentos nematológicos antes da escolha do porta-enxerto. A suscetibilidade das cultivares copa Chardonnay e Bordô reforça a importância do uso de porta-enxertos resistentes a fitonematoides como estratégia de controle (HERNANDEZ; MARTINS; JÚNIOR, 2011).

O maior sistema radicular em Paulsen 1103 do que em Gravesac e Bordô, provavelmente, disponibilizou maior número de sítios de infecção para *P. brachyurus* e, conseqüentemente, maior multiplicação do nematoide, refletindo nos valores de FR. Por outro lado, com um sistema radicular menor, Gravesac e Bordô, apesar de suscetíveis, apresentaram menor FR. Este comportamento já foi observado para outras culturas, onde um maior sistema radicular favoreceu a reprodução de fitonematoides (GOULART, 1997).

Apesar da falta de informações sobre o impacto de *P. brachyurus* no desenvolvimento da videira, alguns estudos citam o impacto de outras espécies de *Pratylenchus* na cultura, como *P. vulnus*, *P. thornei*, e *P. scribneri*. Segundo Teliz et al. (2007), Howland; Schreiner; Zasada (2014) e Bucki et al. (2020), videiras jovens, quando infectadas, são incapazes de desenvolver sistema radicular, reprimindo a formação e estabelecimento das plantas, levando a morte. Por outro lado, plantas adultas apresentam massa e volume do sistema radicular reduzido, principalmente das radículas, refletindo na produtividade.

As reduções, ora observadas, podem ser atribuídas à alimentação e movimentação do nematoide nas raízes de plantas suscetíveis. *Pratylenchus brachyurus* não estabelece um sítio permanente de alimentação, como observado nos

endoparasitas sedentários, mas absorve o conteúdo citoplasmático das células, geralmente do córtex, através da inserção do estilete e um processo de digestão enzimática (TOWNSHEND; STOBBS; CARTER, 1989). À medida que o nematoide se alimenta, aumenta de tamanho e avança para células saudáveis, causando destruição e favorecendo a colonização de fungos e bactérias. Entretanto, quando estas não oferecem condições favoráveis, abandona-as e migra para o solo em busca de novas raízes (KOEN, 1967). Todo esse processo é responsável por desencadear alterações fisiológicas na planta, incluindo respiração, fotossíntese, absorção e translocação de água e nutrientes, equilíbrio hormonal e balanço das relações fonte-dreno, refletindo no crescimento e desenvolvimento (DROPKIN, 1980; HUSSEY; WILLIAMSON, 1998; ASMUS; FERRAZ, 2001).

Além de alterar a fisiologia das plantas, o nematoide-das-lesões-radiculares consome nutrientes utilizados pelo hospedeiro e, em alguns casos, afeta a partição de fotossintatos. Populações de fitonematoides com alta capacidade reprodutiva requerem quantidades consideráveis de nutrientes (energia) para a produção de ovos e competem com o hospedeiro pelo “pool” de nutrientes nas raízes (HUSSEY; WILLIAMSON, 1998). Os resultados observados em Paulsen 1103 são um exemplo da assertiva acima, no qual variáveis de desenvolvimento foram alteradas, principalmente a massa fresca da raiz, cuja redução observada no presente estudo foi drástica. Devido à capacidade destrutiva, provavelmente *P. brachyurus* impactou diretamente na quantidade e qualidade dos nutrientes e na água disponível e translocada para a parte aérea, resultando em redução de massa nos genótipos suscetíveis.

As alterações nos teores de CHT em plantas infectadas com nematoides podem estar relacionadas às interações fonte-dreno, com as raízes infectadas representando o dreno (McCLURE, 1977; HUSSEY; WILLIAMSON, 1998). Dependendo da força do dreno (número de sítios de alimentação do nematoide nas raízes e população do nematoide), uma maior demanda energética pode induzir o aumento de açúcares (carboidratos) nas folhas (fonte), via fotossíntese e hidrólise do amido, com posterior transporte para as raízes (ANWAR; VAN GUNDY, 1989). Além disso, o aumento da taxa fotossintética resulta em aumento da translocação de carboidratos a partir da fonte para o dreno. Este dreno significaria um desvio de carboidratos atribuído ao crescimento das plantas para o nematoide (KOCH, 1996; HAYES; DAVIES; DRY, 2007; DUNFORD, 2013), provavelmente relacionado às



reduções de massa em plantas infectadas, conforme observado aqui para os genótipos Paulsen 1103 e Chardonnay.

Em uma planta sadia, o aumento dos teores de clorofila e carotenoides está normalmente relacionado ao desenvolvimento vegetativo, ou seja, aumento de massa, pois estes pigmentos são responsáveis pela absorção da luz e ativação da fotossíntese (KEBEISH et al., 2007; BUCHANAN; LORIMER; WOLSIUK, 2013). Durante a fotossíntese, a planta utiliza energia solar para oxidar a água, consequentemente liberando oxigênio, e para reduzir o dióxido de carbono, tendo como produto compostos carbonados, principalmente carboidratos, que serão translocados para tecidos dreno (EBERHARD; FINAZZI; WOLLMAN, 2008; BLANKENSHIP, 2013). Entretanto, como observado neste estudo, o aumento dos teores de clorofila e carotenoides resultaram em menor massa fresca de parte aérea e raiz, apenas onde o FR foi elevado, sugerindo que a alta população de nematoides nas raízes alteraram a demanda por carboidratos, a intensidade e a atividade do dreno (raiz) em mobilizar fotossintatos em seu benefício. Este comportamento é explicado pelos processos de sinalização e biossíntese de carboidratos, os quais estão invariavelmente ligados aos níveis alocados em cada compartimento metabólico (dreno) (DUNFORD, 2013; GRIFFITHS; PAUL; FOYER, 2016). Assim, os carboidratos não apenas fornecem os esqueletos de carbono para o crescimento e biossíntese de polissacarídeos (SMITH; STITT, 2007), mas constituem uma forma de comunicação para modulação da partição do carbono entre fontes e drenos (DUNFORD, 2013), aqui possivelmente sob interferência do nematoide.

Diferente do que foi observado nos porta-enxertos com elevadas taxas de reprodução de *P. brachyurus*, os genótipos Gravesac, Salt Creek, Bordô e IAC 313 Tropical apresentaram redução nas variáveis de desenvolvimento, inclusive nos teores de CHT. Nestes genótipos, os carboidratos produzidos pelas folhas, aparentemente, foram utilizados pela planta em uma tentativa de buscar o equilíbrio fisiológico e suprir a espoliação pelo nematoide nas raízes, como observado por McIntyre, Bush e Argueso (2021), em outro patossistema. Além disso, a energia da planta pode ter sido drenada para o parasita, reduzindo os teores de CHT e impedindo a compensação da demanda energética (BARÓN; FLEXAS; DELUCIA, 2012). Outro fator a se observar é que o parasitismo de *P. brachyurus* nas raízes possivelmente resultou em “perda de carboidratos”, devido ao aumento da respiração e exsudação pelas raízes danificadas e aumento da competição por fotossintatos translocados,

resultando num processo descoordenado de alocação e partição (KAPLAN et al., 2011; CABELLO et al., 2014).

Embora não tenham sido obtidos dados sobre a produção de frutos, parece adequado extrapolar que o estresse ocasionado pelo nematoide não poderia ser compensado apenas pelo aumento dos teores de CHT nos genótipos com altas populações, pois houve redução de outras variáveis de desenvolvimento, comprometendo, principalmente, o sistema radicular. Além disso, o consumo de carboidratos pelo nematoide comprometeria o seu acúmulo durante a fase de dormência das plantas, resultando em alterações nos mecanismos de resistência ao frio, na brotação, floração e enchimento das bagas, visto que, os carboidratos são a principal fonte de energia para as alterações metabólicas durante a fase de dormência e fases subsequentes (SHERSON et al., 2003).

De uma forma geral, a alta capacidade de disseminação, a ampla gama de hospedeiros de espécies de *Pratylenchus* e as restrições quanto ao custo e ineficiência dos nematicidas químicos, além de sua falta de registro para uso em videira no Brasil (AGROFIT, 2022), têm ampliado a importância do desenvolvimento de genótipos resistentes como medida de controle (THOMPSON, 1999; LINSELL, 2014). Dessa forma, o emprego desses materiais seria ideal para o manejo, uma vez que é eficiente na redução da população, bem como não aumenta os custos de produção. Entretanto, além da escassez de informações na literatura, poucos materiais com níveis moderados de resistência estão disponíveis para os produtores.

Embora acessos de *Vitis* sp. imunes ou resistentes a nematoides endoparasitas sedentários sejam encontrados, a resistência aos nematoides endoparasitas migradores e ectoparasitas é detectada com menos frequência (SCHREINER; ZASADA; PINKERTON, 2012). Além disso, a resistência de plantas a nematoides é mais eficaz contra as espécies e gêneros mais especializados, os endoparasitas sedentários do que para os migradores, devido a sua íntima relação com o hospedeiro (HOLBIEN; GRUNDLER; SIDDIQUE, 2016).

Atualmente, algumas fontes de resistência são encontradas, apesar de ainda carecerem de informações quanto ao mecanismo relacionado à esta reação (PENG; MOENS; 2003; FERRIS; ZHENG; WALKER, 2012). Em algumas espécies, a reação resistência ou a tolerância a *Pratylenchus* sp. está associada à redução da motilidade e reprodução do nematoide após a infecção (DROPKIN, 1980; SUJATHA; MEHTA, 1998; PENG; MOENS, 2003). Em programas de melhoramento genético têm-se

recorrido aos cruzamentos interespecíficos, utilizados para introduzir os genes de interesse, que geralmente estão associados à resistência a doenças, e que são encontrados em espécies selvagens de origem americana, asiática ou híbridos entre elas. Após a introdução do gene, o retrocruzamento é realizado como forma de reintroduzir as características comerciais de *V. vinifera* (MOREIRA et al. 2011; DANGL et al. 2015; VIANA et al. 2016).

As espécies americanas, *V. riparia* e *V. rupestris*, são frequentemente utilizadas como parentais em cruzamentos que buscam a resistência a fitonematoides (FERRIS; ZHENG; WALKER, 2012). Este gênero está subdividido em dois subgêneros: *Muscadinia* Planch (2n = 40) e *Euvitis* Planch (2n = 38), cujas espécies estão agrupadas de acordo com morfologia e a origem geográfica. O subgênero *Muscadinia* é nativo do Sudeste dos Estados Unidos e México e possui três espécies conhecidas, *V. rotundifolia* Michaux, *V. munsoniana* Simpson e *V. popenoi* Fennell (GALET, 1998), destacando a primeira como a mais importante. Os híbridos entre *Muscadinia* e *Euvitis*, em geral, não são férteis, devido às diferenças cromossômicas. Entretanto, o sucesso obtido pela hibridação entre *Muscadinia* e inúmeras espécies de *Vitis*, torna este subgênero uma importante fonte de genes de resistência a fitonematoides (SANTOS et al., 2019). Neste ponto, cabe ressaltar que, no presente estudo, os genótipos que apresentaram reação de imunidade a *P. brachyurus* são resultado de cruzamentos onde pelo menos um dos parentais é *V. rotundifolia*, reforçando a importância desse material como fonte de resistência. Alguns porta-enxertos resultantes de cruzamentos entre os materiais descritos anteriormente estão disponíveis para os viticultores, embora apresentem variação no grau de resistência/tolerância a diferentes fitonematoides (SCHREINER; ZASADA; PINKERTON, 2012). Diante disso, é de grande importância que estes materiais sejam avaliados em condições campo quanto a sua reação ao nematoide-das-lesões nas áreas onde o referido nematoide ocorre.

Os genótipos que se mostraram imunes a *P. brachyurus* neste estudo possuem características agronômicas desejáveis para os viticultores, como por exemplo, o porta-enxerto VR043-43, que possui como características o aumento do vigor da copa, atraso na maturação e resistência moderada a antracnose e ao míldio. Os demais genótipos, apesar de ainda não inseridos no Registro Nacional de Cultivares/MAPA, apresentam boa adaptabilidade a região Sul do Brasil, compatibilidade na enxertia e aumento do vigor da copa. Estes materiais, em breve, podem servir como opção de

uso em áreas infestadas por *P. brachyurus*, que além de estar amplamente disseminado e ser patogênico a várias culturas (MACHADO; INOMOTO, 2001; NORONHA et al., 2017), vêm sendo associado a vinhedos em declínio (DIVERS et al., 2019; SILVA et al., 2019).

Um dos desafios atuais da nematologia é a obtenção de materiais resistentes a nematoides migradores e, ao mesmo tempo, a obtenção de altas produtividades. Entretanto, o hábito de parasitismo, a polifagia e a baixa especialização do nematoide são vistos como obstáculos para incorporação da resistência em genótipos de videira (GOULART, 2008; PUERARI et al., 2012). Dessa forma, a hibridização interespecífica pode ser uma estratégia para contornar este problema, visto que, espécies silvestres, podem conter genes que conferem resistência genética a *P. brachyurus* não encontrados em espécies cultivadas (SCHUCK et al., 2011; SANTOS et al., 2019).

#### **4.3.3. Estudo da interação entre *Pratylenchus brachyurus* e *Ilyonectria macrodidyma* em genótipos de videira**

De acordo com as análises estatísticas realizadas para esse estudo houve interação significativa entre os fatores genótipo e interação nematoide/fungo ( $P < 0,0001$ ) para reprodução e populações finais de *P. brachyurus* (*Pb*) na presença ou ausência de *I. macrodidyma* (*Im*), conforme a Tabela 25. Análogo ao ensaio de reação a *P. brachyurus*, o porta-enxerto VR 043- 43 comportou-se como imune ao nematoide, assim como os porta-enxertos Paulsen 1103 e Gravesac comportaram-se como suscetíveis. Incluído neste ensaio, a cultivar copa Niagara Rosada apresentou reação de suscetibilidade à *P. brachyurus*.

Na presença de *I. macrodidyma*, houve aumento na população final de nematoides e, conseqüentemente, do FR de todos os genótipos suscetíveis. O porta-enxerto Paulsen 1103 apresentou FR extremamente alto na presença de *I. macrodidyma*, aproximadamente doze vezes maior do que na ausência do fungo, diferindo estatisticamente do porta-enxerto Gravesac e da cultivar copa Niagara Rosada. Na ausência de *I. macrodidyma*, Paulsen 1103 também se destacou com as maiores populações finais e FR, quando comparado aos demais genótipos.

**Tabela 25.** População final de nematoides no solo e raiz (PF), fator de reprodução (FR) e tipo de reação de genótipos de videira inoculados com *P. brachyurus* (+N) e inoculados (+F) ou não inoculados (-F) com *I. macrodidyma*.

Genótipo	PF				FR				Reação
	+N+F		+N-F		+N+F		+N-F		
Paulsen	451.484,6	a <sup>*1/</sup>	37.770,9	a	451,48	a*	37,77	a	S <sup>2/</sup>
Gravesac	13.544,3	b*	4.215,7	b	13.54	b*	4,22	b	S
VR043-43	0,00	d	0,00	d	0,00	c	0,00	c	I
Niagara	9.460,5	c*	1,438,2	c	9,46	b*	1,44	c	S
CV (%)	15,46		18,67				21,64		25,22

<sup>1/</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ), comparando os genótipos. Médias seguidas por (\*) na linha diferem entre si pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando plantas inoculadas (+F) e não inoculadas (-F) com *I. macrodidyma* <sup>2/</sup>Reação de resistência/suscetibilidade, segundo Oostenbrink (1966). S: suscetível, R: resistente e I: imune.

Analisando os resultados das variáveis de desenvolvimento, constatou-se interação significativa para massa fresca de parte aérea ( $P < 0,0001$ ) e raiz ( $P < 0,0001$ ) e teores de clorofila total ( $P < 0,0001$ ) e carotenoides ( $P < 0,0001$ ) (Tabela 26). O efeito combinado de *Pb* e *Im* resultou em reduções de 48,2, 28,5 e 22,3% de MFPA em 'Niagara Rosada', 'Paulsen 1103' e Gravesac, respectivamente. 'Niagara Rosada' foi negativamente afetada pelo efeito isolado de *Im*, com redução de 62,8% da variável em questão, seguida por 'Paulsen 1103' e 'Gravesac', com 22,2 e 17,4% de redução, respectivamente. Por outro lado, o efeito isolado de *Pb* resultou em reduções de 48,5% em 'Niagara Rosada', 31,3% em 'Paulsen 1103' e 23,5 em 'Gravesac'. Na comparação da MFPA entre os genótipos, 'Niagara Rosada' e 'Gravesac' apresentaram os maiores valores na ausência dos dois patógenos. Para os demais tratamentos, 'Niagara' e 'Paulsen 1103' apresentaram os menores valores desta variável, reforçando o efeito negativo dos dois patógenos.

Em relação a massa fresca de raiz, também foram observadas diferenças significativas entre o efeito combinado e o efeito isolado de cada patógeno. A MFRA de 'Niagara' foi significativamente afetada por todos os tratamentos, com reduções de 53,4% para o efeito combinado, 45,8% para o efeito isolado de *Im* e 31,2 para o efeito isolado de *Pb*. O efeito de *Pb* e *Im* em 'Paulsen 1103' resultou em 29,3% de redução, diferindo dos demais tratamentos.

**Tabela 26.** Massa fresca da parte aérea e raízes, teores de clorofila total e carotenoides em genótipos de videira submetidos a diferentes combinações de inoculação com *P. brachyurus* (+N e -N) e *I. macrodidyma* (+F e -F), sob condições de casa de vegetação.

Genótipo	Massa fresca parte da aérea (g)								Massa fresca de raízes (g)							
	-N-F		+N+F		-N+F		+N-F		-N-F		+N+F		-N+F		+N-F	
Paulsen	20,89	Ba <sup>1/</sup>	14,94	Bb	16,25	Bb	14,35	Bb	55,39	Ba	39,14	Bb	42,70	Ba	48,70	Bab
Gravesac	23,68	Aa	18,40	Ab	19,57	Ab	18,12	Ab	40,58	Ba	32,61	Bb	34,88	Bb	31,66	Cb
VR043-43	18,98	Ba	17,77	Aa	17,32	Ba	18,21	Aa	103,60	Aa	95,28	Ab	104,27	Aa	95,10	Ab
Niagara	26,55	Aa	13,76	Bb	9,87	Cc	13,66	Bb	40,01	Ba	18,66	Bc	21,75	Bc	27,52	Cb
CV (%)	19,65		15,16		22,30		35,94		35,11		31,61		30,24		31,13	

Genótipo	Clorofila Total (mg/g massa fresca)								Carotenoides (mg/g massa fresca)							
	-N-F		+N+F		-N+F		+N-F		-N-F		+N+F		-N+F		+N-F	
Paulsen	1,87	Ca	0,86	Dd	1,44	Bc	1,42	Cc	0,16	Aa	0,11	Abc	0,13	Aab	0,09	BCc
Gravesac	2,04	Ba	1,08	Cd	1,31	Cc	1,45	Cb	0,15	Aa	0,10	Ab	0,14	Aa	0,15	Aa
VR043-43	1,63	Da	1,61	Aa	1,67	Aba	1,62	Ba	0,14	Aa	0,13	Aa	0,11	Aa	0,13	ABa
Niagara	2,44	Aa	1,49	Bc	1,66	Ab	1,81	Ab	0,16	Aa	0,07	Bb	0,11	Aab	0,11	Bab
CV (%)	4,25		7,54		8,01		5,36		25,63		18,27		17,98		18,87	

<sup>1/</sup> Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando os diferentes genótipos. Médias seguidas por mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando as diferentes combinações entre *P. brachyurus* e *I. macrodidyma*.

Diferente do que foi observado no ensaio de reação a *Pb*, o efeito isolado ou combinado dos patógenos causou redução do teor de clorofila total em todos os genótipos suscetíveis à *Pb*. A inoculação com os dois patógenos resultou em 54,0 e 47,1% de redução em 'Paulsen 1103' e 'Gravesac', respectivamente, e 38,9% em 'Niagara Rosada'. Apenas em 'Gravesac' o efeito isolado de *Im* ou *Pb* apresentou diferenças significativas entre si para a variável em questão, sendo que o efeito de *Im* resultou em 35,7% e *Pb* em 28,9% de redução. Na comparação entre os genótipos, para o efeito combinado, o porta-enxerto VR 043-43 apresentou os maiores teores de clorofila total (CFL), porém, na ausência dos dois patógenos, 'Niagara Rosada' apresentou os maiores teores, evidenciando o quanto este genótipo foi afetado pelo efeito combinado de *Im* e *Pb*. Os resultados observados para o teor de carotenoides foram semelhantes aos de CFL, porém, apenas no porta-enxerto Paulsen 1103 foram observadas diferenças significativas entre os efeitos isolados de *Im* e *Pb*. Em plantas desse porta-enxerto inoculadas apenas com *Pb*, a redução observada foi de 43,8%. A inoculação apenas com *Im* reduziu em 18,8% o teor de carotenoides. O efeito combinado foi responsável por 31,3% de redução desta variável.

Quanto aos sintomas vasculares (Figura 23), constatou-se interação significativa entre os fatores genótipo e interação *Im/Pb* para escurecimento vascular ( $P < 0,0001$ ) e área necrótica ( $P < 0,0001$ ) (Figura 16A e 16B). A extensão do escurecimento vascular causado pelo efeito combinado de *Im* e *Pb* variou de 0,0 a 143,0mm, onde o porta-enxerto VR 043-43 não apresentou escurecimento e Paulsen 1103 as maiores extensões deste sintoma. Foi observado que, em 'Paulsen 1103', 'Gravesac' e 'Niagara Rosada', mesmo em tratamentos onde não houve inoculação com *I. macrodidyma* (+N- F ou -N-F), houve escurecimento vascular, porém em menor extensão quando comparado ao tratamento em que o fungo foi inoculado. O porta-enxerto VR 043-43 não apresentou escurecimento em nenhum tratamento. Em todos os genótipos com escurecimento vascular, esta variável foi significativamente maior para o efeito combinado de *Im* e *Pb*, quando comparado aos demais efeitos, conforme pode ser observado em Paulsen 1103 e Niagara Rosada, por exemplo, onde o escurecimento vascular foi 50,0 e 24,7% maior, respectivamente, para o efeito combinado (+N+F) do que para o efeito isolado de *Im* (-N+F).

Semelhantemente ao que foi observado para o escurecimento vascular, a área necrótica observada em secções transversais de caules foi significativamente maior para o efeito combinado dos dois patógenos em 'Paulsen 1103', 'Gravesac' e 'Niagara

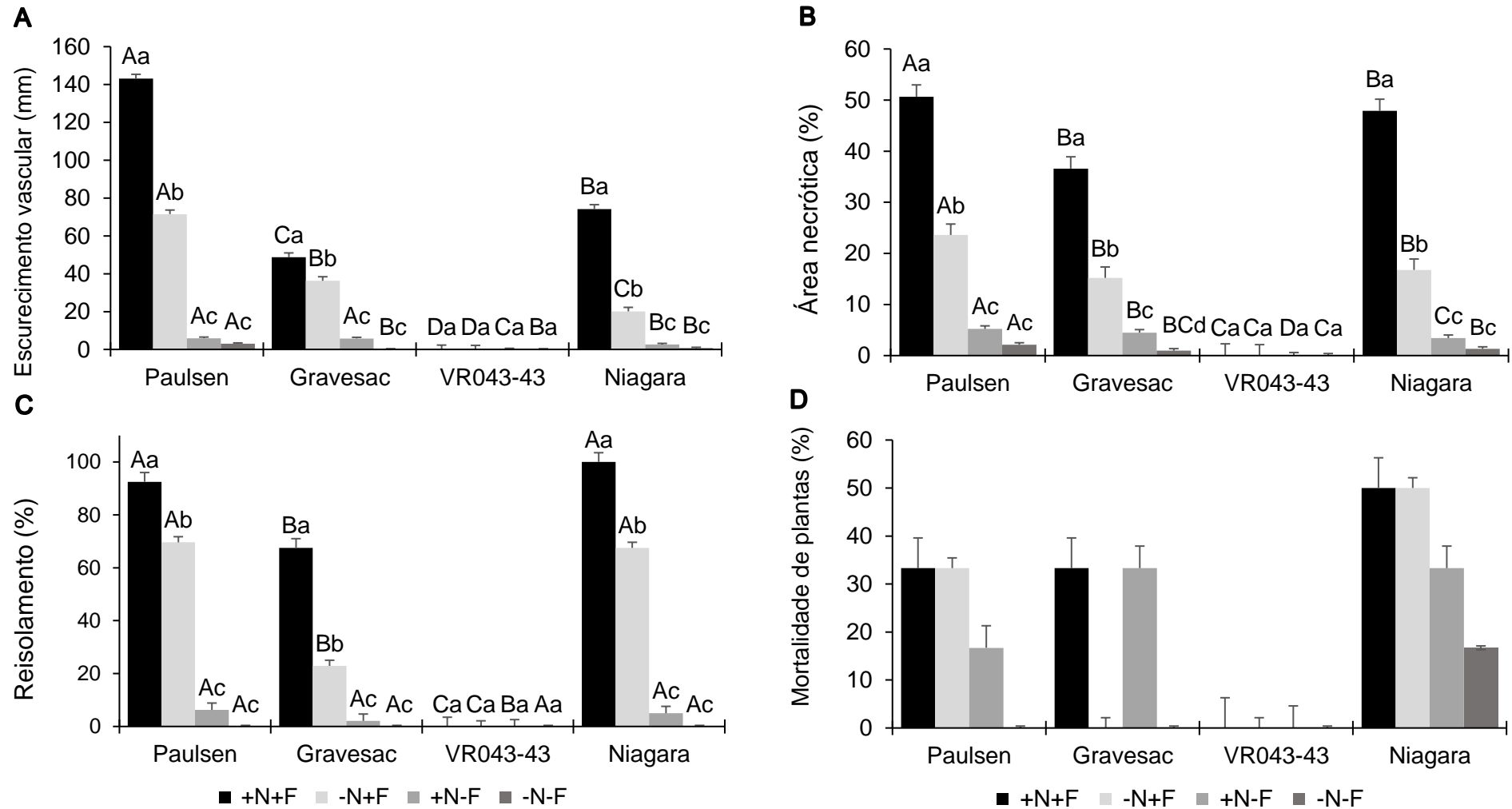
Rosada'. Não foram observados pontos necróticos no porta-enxerto VR 043-43. Também foram observados pontos necróticos em 'Paulsen 1103', 'Gravesac' e 'Niagara Rosada' em tratamentos onde *Im* não foi inoculado.

Após vinte e seis semanas da inoculação, Niagara apresentou sintomas de clorose foliar, escaldadura nas bordas das folhas (Figura 24A) e redução do vigor, condizente com as reduções de massa fresca de parte aérea e raiz e nos teores de clorofila total e carotenoides. Paulsen 1103 e Gravesac, apesar de não apresentarem sintomas de clorose foliar, apresentaram redução do vigor para o efeito isolado e para o efeito combinado de *Im* e *Pb*. Na presença de *Im* e *Pb*, a mortalidade de plantas foi maior em Niagara Rosada (50%) quando comparado a Paulsen 1103 e Gravesac (33,3%). Foi observada mortalidade de plantas do porta-enxerto Gravesac apenas nos tratamentos onde *P. brachyurus* foi inoculado (+N+F e +N-F) (33,3%). Por outro lado, apenas em plantas livres dos dois patógenos (-N-F) não houve mortalidade de plantas de Paulsen 1103. Não houve morte de plantas em do porta-enxerto VR 043-43.

A percentagem de recuperação de *I. macrodidyma* (Figura 23C) foi superior a 60,0 e 90,0% em Gravesac e Paulsen 1103 e, 100% em Niagara Rosada, quando os dois patógenos foram inoculados. Quando somente *I. macrodidyma* foi inoculado, a percentagem de recuperação foi de 23,0% em Gravesac, 70% em Paulsen 1103 e 68% em Niagara Rosada, sugerindo elevada suscetibilidade destes dois últimos ao patógeno inoculado.

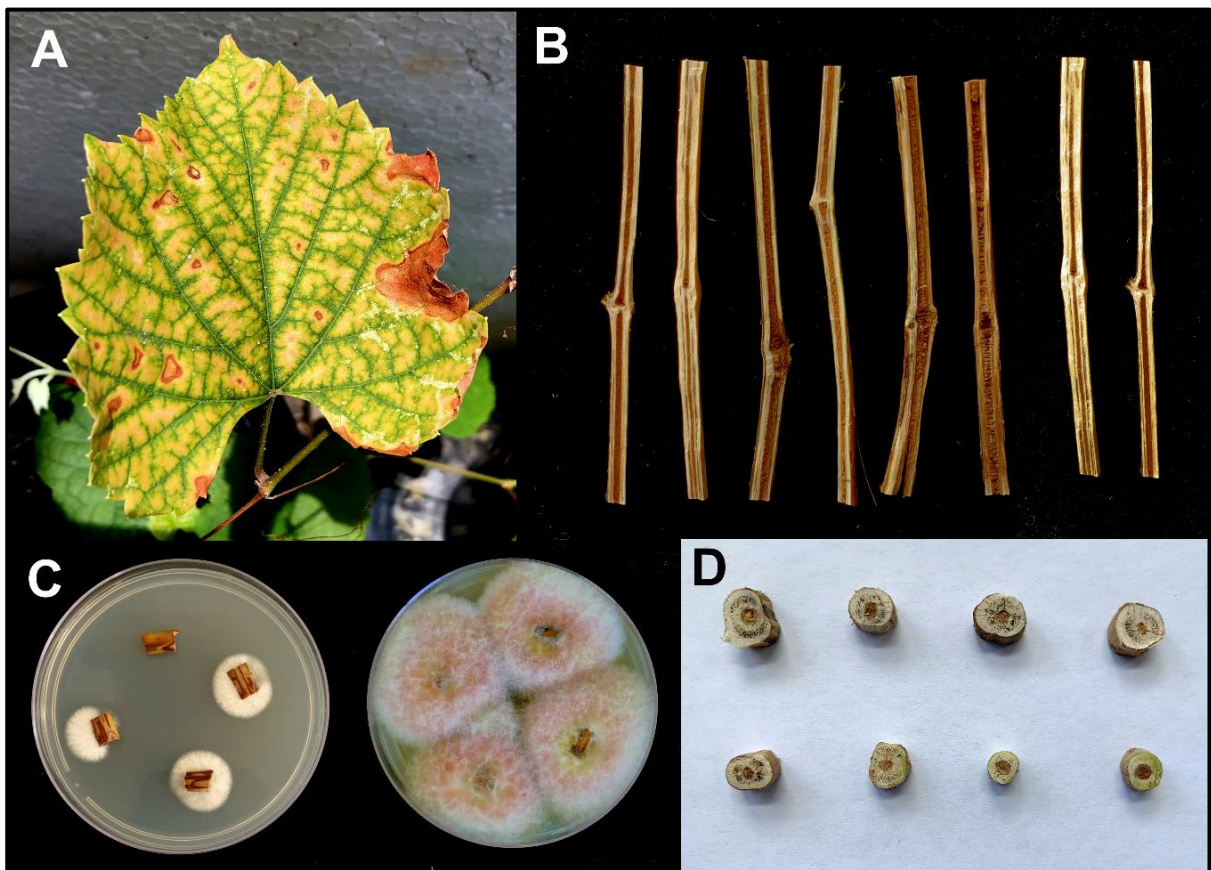
Os ferimentos causados durante a alimentação de fitonematoides podem facilitar acesso de fungos fitopatogênicos aos tecidos vegetais para causar infecções. Além disso, fitonematoides podem induzir mudanças fisiológicas em seu hospedeiro, alterando as populações fúngicas ao redor da rizosfera da planta, tornando-a mais propensa a aumentar o tamanho populacional e/ou patogenicidade dos dois agentes (BACK; HAYDOCK; JENKINSON, 2002). No presente estudo, o ambiente formado pela infecção de *P. brachyurus*, *I. macrodidyma* no porta-enxerto Paulsen 1103, favoreceu o aumento da população do nematoide a níveis incomuns. Resultados semelhantes foram relatados por McKeen e Mountain (1962), onde os autores associaram o aumento da população de *P. penetrans* ao aumento da concentração de CO<sub>2</sub> e de exsudatos liberados por raízes de tomate e beringela, infectadas por *Verticillium* spp. Além disso, os autores sugeriram a infecção por *Verticillium* spp., tornou as raízes dos hospedeiros um melhor substrato para o nematoide.





**Figura 23.** Escurecimento vascular (A), área necrótica (B), reisolamento de *I. macrodidyma* (C) e mortalidade (D) de plantas submetidas a diferentes combinações de inoculação com *P. brachyurus* (+N e -N) e *I. macrodidyma* (+F e -F). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando os genótipos. Médias seguidas por mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando as combinações de inoculação. Barras verticais representam a média  $\pm$  o desvio padrão.

Bergeson (1972) citou a importância dos exsudatos radiculares para o aumento das populações de nematoides. Segundo o autor, durante o parasitismo do nematoide, a concentração de exsudatos liberados pelas raízes é significativamente maior, alterando a composição da rizosfera e as concentrações de CO<sub>2</sub>, tornando-a uma fonte de nutrientes mais atrativa para fungos, bactérias e nematoides.



**Figura 24.** A) Sintomas de clorose e escaldadura em folha de videira. B) Escurecimento vascular em secções longitudinais de caules de videira. C) Reisolamento de *I. macrodidyma* em fragmentos de caules. D) Necrose em secções transversais de caules de mudas de videira.

Apesar dos relatos de que a presença de fitonematoides afeta o desenvolvimento e a expressão de doenças em alguns patossistemas (LA MONDIA, 2003; RAHMAN; PUNJA, 2005; CAO et al., 2006), não existem dados sobre o efeito da interação entre *P. brachyurus* e *I. macrodidyma* em videira. Embora não envolva *I. macrodidyma*, o cancro bacteriano em pessegueiro e nozeira é um exemplo de como os fitonematoides podem influenciar o desenvolvimento e a severidade de doenças em culturas perenes. Cao et al. (2005) e Cao et al. (2006) demonstraram que

a infestação com o *M. xenoplax* é responsável pelo aumento da severidade do cancro bacteriano em pessegueiro, causado por *Pseudomonas syringae* van Hall. Além disso, a infestação pelo referido nematoide resulta em deficiência de nitrogênio, sugerido como mecanismo responsável pelo aumento da suscetibilidade à infecção por *P. syringae* (CAO et al., 2011).

Safdar et al. (2013) estudando o efeito da interação entre *Fusarium semitectum* Berk. & Ravenel e *Tylenchus semipenetrans* Cobb, 1913 no declínio dos citros, relataram a existência de sinergismo entre os dois agentes, com reduções significativas no crescimento das plantas, comprimento de raízes, diâmetro do caule e população de nematoides nas raízes para o efeito combinado do nematoide e fungo. Em outro estudo, Wheeler et al. (1992) demonstraram que a infecção por *P. penetrans* (Cobb, 1917) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941 foi determinante para penetração de *Verticillium* spp. Nees 1816, resultando em redução da massa de tubérculos e senescência precoce em plantas de batata, sendo que na ausência do nematoide não houve infecção pelo patógeno fúngico. Semelhantemente, LaMondia (2004) observou que os sintomas de podridão radicular do morango, causados por *Rhizoctonia fragariae* Husain & McKeen, foram significativamente superior em plantas previamente infectadas por *P. penetrans*, quando comparados a plantas não infectadas pelo nematoide.

Segundo Back, Haydock e Jenkinson (2002), as interações podem ser resumidas como sinérgicas, quando a associação entre nematoide e fungo resulta em danos à planta que excedem a soma dos danos individuais de cada patógeno ( $1 + 1 > 2$ ). Por outro lado, onde a associação entre nematoide e fungo resulta em dano à planta menor do que a soma dos organismos individuais, a interação pode ser descrita como antagônica ( $1 + 1 < 2$ ). Quando nematoides e fungos interagem e causam danos às plantas que equivalem à soma dos danos individuais, a associação pode ser descrita como neutra ( $1 + 1 = 2$ ). Esta última pode ser difícil de identificar, pois associações neutras podem resultar em danos à planta semelhantes aos observados em associações aditivas, onde nematoide e fungo são conhecidos por não interagirem um com o outro. No presente estudo, o efeito da interação entre *Im* e *Pb* ultrapassou a soma dos danos individuais de cada patógeno para as variáveis escurecimento vascular, área necrótica e mortalidade de plantas, em uma clara indicação de sinergismo. Os maiores fatores de reprodução de *P. brachyurus* observados na presença de *I. macrodidyma*, reforçam a assertiva acima, pois a

percentagem de recuperação de *I. macrodidyma* foi maior em plantas previamente infectadas por *P. brachyurus*, para todos os genótipos.

No presente estudo, não foi observado sintomas ou reisolamento de *I. macrodidyma* no porta-enxerto VR 043-43, entretanto, Rases (2005) relatou suscetibilidade deste genótipo ao referido patógeno. Entretanto, como capitulado anteriormente, o referido estudo precisa ser reavaliado devido à falta de confirmação da identidade do patógeno nos tecidos vasculares.

A recuperação de *I. macrodidyma* de fragmentos de caules em tratamentos onde o referido patógeno não foi inoculado, corrobora com as observações de Úrbez-Torrez (2014), Gramaje et al. (2018) e Reis et al. (2019), os quais relataram o isolamento de fungos causadores de DTV em tecidos assintomáticos, atuando como patógenos latentes. A presença de fungos causadores de DTV em tecidos assintomáticos é uma ameaça a plantas matrizes por se tornarem fontes potenciais de inóculo em processos de propagação vegetativa e em estabelecimento de vinhedos (MONDELLO et al., 2018).

A coexistência e as interações entre nematoides e fungos, sejam sinérgicas ou antagônicas, são fundamentais para a compreensão de seus efeitos ecossistêmicos e seus potenciais danos na agricultura. Um dos principais desafios da fitopatologia atual é uma melhor compreensão das interações entre fitonematoides e fungos para o desenvolvimento de estratégias de manejo. Nesta perspectiva, os resultados deste estudo sinalizam que altas taxas de ocorrência do pé-preto da videira podem estar relacionados à interação com *P. brachyurus* no campo, reforçando a importância do emprego de porta-enxertos de videira resistentes ao nematoide-das -lesões-radiculares e contribuindo para o sistema de produção de uva, principalmente na instalação de novos pomares.

#### **4.4. Conclusões**

Há diversidade de gêneros de fitonematoides em vinhedos com sintomas de declínio nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

Duas espécies do nematoide-das-lesões-radiculares, *P. brachyurus* e *P. zaeae*, estão associadas a vinhedos em declínio no estado de Santa Catarina.

Existem porta-enxertos imunes a *P. brachyurus* (1111-21, 548-44, IBCA-125 e VR 043-43), enquanto outros genótipos (Paulsen 1103, Gravesac, IAC 313

Tropical, Salt Creek, Chardonnay e Bordô) são suscetíveis a referida espécie, nas condições do estudo.

*Pratylenchus brachyurus* reduz os teores de massa fresca de parte aérea e raiz, altera os teores de pigmentos fotossintéticos e o balanço de carboidratos totais em genótipos suscetíveis.

Há sinergismo nas interações entre *P. brachyurus*, *I. macrodidyma* e genótipos de videira suscetíveis.

O efeito combinado de *P. brachyurus* e *I. macrodidyma* potencializa os danos em genótipos de videira suscetíveis, predispondo as plantas ao declínio.

*Ilyonectria macrodidyma* pode ser reisolado de infecções latentes em genótipos de videira suscetíveis.

## 5. CAPÍTULO IV. Primeiro relato de *Meloidogyne morocciensis* infectando plantas de pessegueiro no Brasil

### 5.1. Introdução

O pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch) é a terceira espécie frutífera de clima temperado mais cultivada no território brasileiro, ficando atrás apenas da macieira e da videira (REICHERT; RASEIRA; SACARANARI, 2014). Os fitonematóides são responsáveis por danos econômicos consideráveis em muitas fruteiras e, dependendo da espécie e do nível populacional, seu parasitismo pode reduzir a absorção e a translocação de nutrientes na planta, afetando o desenvolvimento e, conseqüentemente, a produtividade das espécies hospedeiras (GOMES, 2001).

Entre as espécies de fitonematóides que parasitam a cultura do pessegueiro, aquelas pertencentes aos gêneros *Meloidogyne* Goeldi, 1982, *Mesocriconema* Andrassy, 1965, *Xiphinema* Cobb, 1913, *Pratylenchus* Thorne, 1949 e *Helicotylenchus* Steiner, 1945 destacam-se como as mais importantes economicamente (GOMES, 2001; ASKARY et al., 2012). O gênero *Meloidogyne* é considerado o de maior importância devido aos danos que ocasiona e pela sua disseminação nas mais variadas regiões do mundo. As espécies frequentemente relatadas nesta espécie frutífera são *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949, ocorrendo em regiões de clima tropical e subtropical e, *M. hapla* Chitwood, 1949, em regiões de temperatura mais amena (GOMES; CARNEIRO, 2014).

Prejuízos causados por fitonematóides em prunóideas são frequentemente negligenciadas por estes patógenos permanecerem sem diagnóstico por muitos anos (GOMES; CAMPOS, 2003; GOMES; CARNEIRO 2014), fato que explica a falta de dados de perdas no país. Além disso, os danos são geralmente variáveis dentro de um pomar e a morte das plantas é gradual, aumentando com o tempo e com o aumento da população de nematóides e, muitas vezes, essa tendência continua até que muitas plantas sejam perdidas ou a produção seja drasticamente reduzida em uma determinada área (NYCZEPIR, 2011).

A formação de galhas no sistema radicular de plantas de pessegueiro infectadas representa o sintoma primário do parasitismo de nematóides do gênero

*Meloidogyne*. As plantas afetadas apresentam enfraquecimento, baixa produção, desfolhamento precoce e declínio prematuro devido a restrições na absorção e translocação de água e nutrientes, podendo ocorrer, ocasionalmente, a morte da planta (GOMES; CARNEIRO, 2014).

Plantas de pessegueiro de aproximadamente um ano, apresentando nanismo, clorose foliar e raízes com grande número de galhas associadas a presença de *Meloidogyne* sp. foram coletadas em uma área de seedling localizada no município de Pelotas. A seguir, o material foi levado ao Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Clima Temperado para processamento, cujos espécimes obtidos foram caracterizados bioquímica, morfológica e morfométrica mente para identificação da (s) espécie (s) e determinação de seu(s) respectivos níveis populacionais.

## 5.2. Material e Métodos

Durante coletas de solo e raízes para levantamento nematológico, foram observadas plantas de pessegueiro apresentando nanismo, clorose foliar e raízes com grande número de galhas (Figura 25), em um seedling, localizado Sede da Embrapa Clima Temperado, no município de Pelotas/RS (31°40'53.16"S 52°26'23.60"W; 58 m de altitude).



**Figura 25.** Raízes de pessegueiro com galhas causadas por *Meloidogyne* sp. Foto: Cristiano Bellé.

Após a coleta, 10g de raízes foram processadas pelo método de Hussey e Barker (1973) para extração de ovos e juvenis de segundo estágio (J2) e estimativa do nível populacional de nematoides em 10 gramas de raízes. A população obtida foi

purificada e multiplicada em tomateiros (*Solanum lycopersicum* L.) (cv. Santa Cruz) em casa de vegetação ( $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ ) para estudos subsequentes.

### 5.2.1. Caracterização bioquímica, morfológica e morfométrica

Fêmeas adultas de *Meloidogyne* sp. ( $n= 20$ ), com coloração branco-leitosa, foram extraídas das amostras de raízes e submetidas à identificação por eletroforese pelos fenótipos  $\alpha$ -esterase (Est) e malato desidrogenase (Mdh), conforme técnica descrita por Carneiro e Almeida (2001). Após a extração, cada fêmea foi transferida individualmente para tubos capilares (hematócrito) contendo solução de extração para  $\alpha$ -esterase (0,25g de Triton X 100, 5g de sacarose e 25mL de água deionizada) ou para malato desidrogenase (0,1 g de Tris, 20g de sacarose, 0,1g de ácido ascórbico ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ) e 0,1g de hidrocloreto de cisteína). Em seguida as fêmeas foram maceradas e o extrato proteico resultante foi adsorvido em papel filtro qualitativo (Whatman 3mm). Cada fração de papel foi transferida para poços em gel de poliacrilamida 6%, com gel separador e gel empilhador, utilizando tampão de corrida com Tris-glicina (pH 8,9), e, em cada um, depositada uma gota de azul de bromofenol 0,01%. Extratos proteicos de três fêmeas de populações puras de *M. javanica* foram usados como fenótipos de referência em cada gel.

A eletroforese foi realizada sob sistema horizontal, proposto por Smithies (1955) e modificado por Carneiro e Almeida (2001) em cuba contendo tampão de corrida, proposto por Scandalios (1969), ligada a uma fonte de voltagem constante de 100V, e a  $4^{\circ}\text{C}$ . Após o azul de bromofenol ter migrado cinco centímetros do ponto de aplicação ( $\pm 2$  horas de migração), a fonte foi desligada e o gel submetido à revelação. Para a isoenzima  $\alpha$ -esterase, a solução de revelação consistiu em 50mL de tampão fosfato, 50mg de Fast Blue RR Salt e 1,5mL de  $\alpha$ -naftilacetato 1% (30mg de  $\alpha$ -naftilacetato, 15mL de acetona e 15mL de água destilada). Para a isoenzima malato desidrogenase, a solução de revelação consistiu em 50mg de  $\text{NAD}^+$ , 30mg de azul de nitrotetrazólio (NBT), 2mg de PMS, 50mL de água, 10 mL de solução A (10,6g carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ), 1,34g ácido málico ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$ ), 100mL água) e 15mL de solução B (6,06g Tris, 100mL água e ácido clorídrico (HCl) para aferir pH 7,1). Em seguida, os géis foram incubados em estufa a  $37^{\circ}\text{C}$  por 15 minutos, até que as bandas (zimogramas) de cor escura fossem visualizadas em fundo claro.



A identificação dos fenótipos de *Meloidogyne* foi realizada pelo cálculo da mobilidade relativa ( $R_m$ ) das bandas polimórficas, utilizando *M. javanica* como padrão de comparação em relação a espécie estudada (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990; CARNEIRO; ALMEIDA, 2001). Os fenótipos enzimáticos foram identificados por uma letra e um número que corresponderam, respectivamente, a inicial do nome de cada cultura onde o fenótipo foi encontrado pela primeira vez, seguido do número de bandas presente no gel (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990).

Juvenis de segundo estágio ( $n= 20$ ) e machos ( $n= 10$ ) de *Meloidogyne* foram mortos em formol frio ( $5^{\circ}\text{C}$ ) a 1%, transferidos para lâminas de vidro e fotografados. Adicionalmente, fêmeas individuais ( $n= 20$ ) foram submetidas à identificação pelo padrão perineal (TAYLOR; NETSCHER 1974). Os padrões perineais foram cortados a partir de fêmeas adultas em ácido láctico a 45% e montados em glicerina. Os espécimes foram fotografados e mensurados em um sistema de aquisição de imagens, que consistiu em uma câmera de vídeo (Leica DFC 295) acoplada ao microscópio óptico (Leica DM 1000), nas objetivas de 20X e 40X e na objetiva de imersão de 100X, e a um microcomputador, utilizando o software LAS Core (v.3.7).

### 5.2.2. Teste de patogenicidade

Para avaliar a patogenicidade da população de *Meloidogyne* sp. purificada, foi realizado um bioteste sob condições de casa de vegetação, no período de 03/10/2019 a 05/04/2020, nas instalações da Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS ( $31^{\circ}40'53.16''\text{S}$   $52^{\circ}26'23.60''\text{W}$ ; 58 m de altitude). Mudanças do mesmo material vegetal (seleção) foram obtidas através de cultura de embriões pelo Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal da Embrapa Clima Temperado.

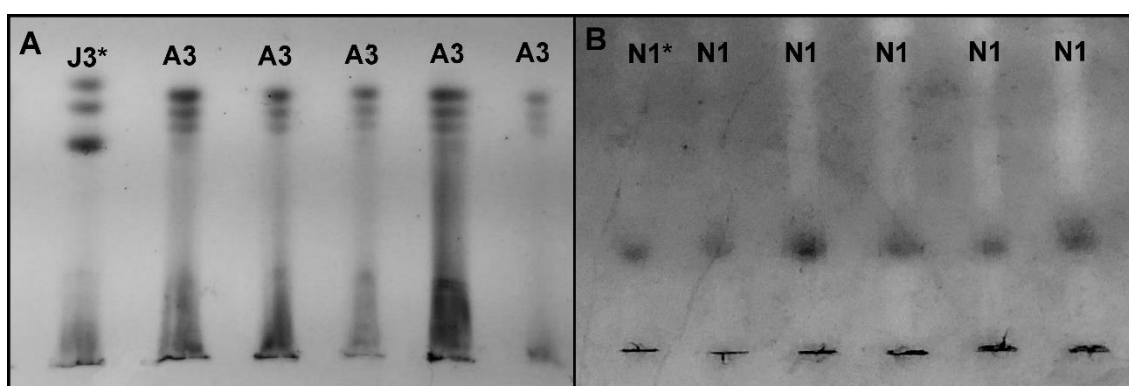
Mudas de pessegueiro foram mantidas, individualmente, em vasos de polietileno com capacidade de 5L, contendo solo esterilizado, e inoculadas com 1.000 ovos+J2 (População inicial -  $P_i$ ) da população original de *Meloidogyne* sp., através de orifícios de quatro cm de profundidade, ao redor de cada muda, utilizando cinco repetições. Para comparação dos danos causados pelo nematoide, plantas não inoculadas foram mantidas sob as mesmas condições. O inóculo foi obtido do sistema radicular de plantas de tomate mantidas em casa de vegetação ( $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ ), pelo método de Hussey e Barker (1973) e a concentração foi calibrada em lâmina de Peters, sob microscópio óptico. As plantas foram mantidas em casa de vegetação ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) por

um período de 185 dias, sendo monitoradas diariamente quanto a necessidade de água e tratamentos culturais.

Decorridos 185 dias da inoculação, o sistema radicular de cada planta foi lavado individualmente em água corrente e o excesso de água retirado com papel toalha, antes da pesagem e contagem do número de galhas. Posteriormente, o sistema radicular de cada planta foi processado conforme o método de Hussey e Barker (1973), para estimativa da população final (Pf) e determinação do fator de reprodução do nematoide [FR= população final de nematoides (Pf) / população inicial (Pi)], de acordo com Oostenbrink (1966).

### 5.3. Resultados e Discussão

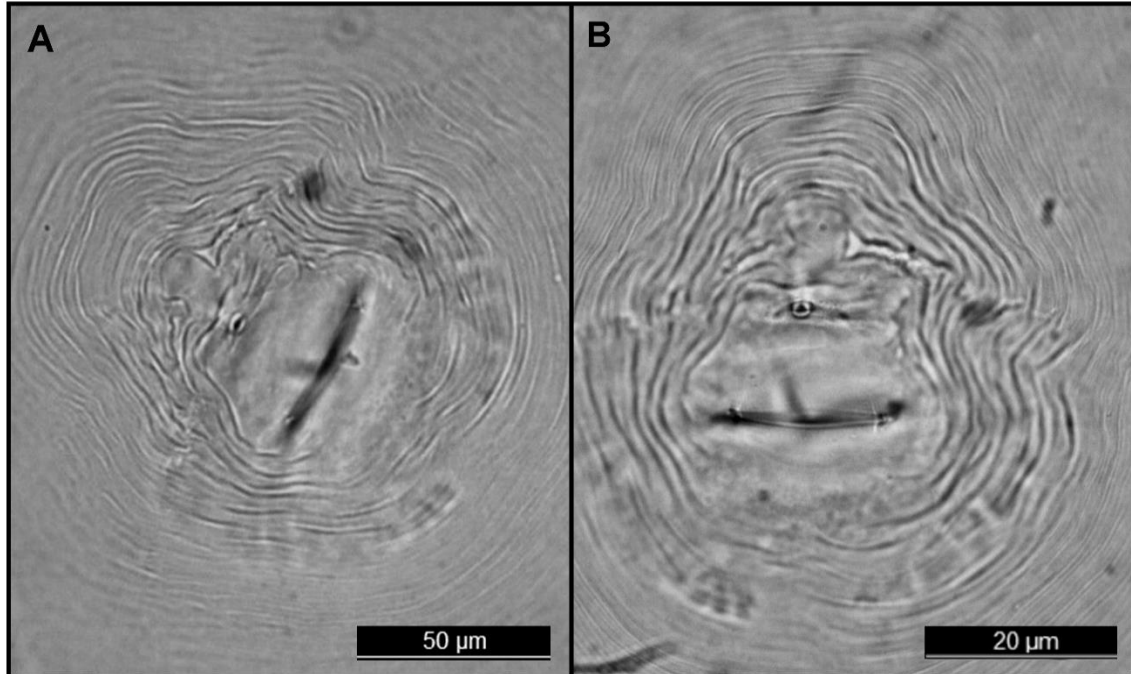
O nível estimado da população de nematoides observado a campo foi de 283 ovos+J2/10g de raízes. A análise de polimorfismo das fêmeas extraídas das raízes de pessegueiro revelou o fenótipo A3N1, sendo Est A3 o fenótipo observado para  $\alpha$ -esterase, com três bandas distintas (Rm = 1,12; 1,20; 1,30) (Fig. 26A) e o fenótipo Mdh N1, correspondente à isoenzima malato desidrogenase, com apenas uma banda (Rm = 1,0) (Fig. 26B), típico de *Meloidogyne morocciensis* Rammah e Hirschmann (1990) conforme descrito por Carneiro et al. (2008).



**Figura 26.** A) Fenótipos de esterase (A3) e B) malato desidrogenase (N1) de fêmeas de *M. morocciensis*. *M. javanica* (J3) e (A1\*) como padrão de referência.

Os padrões perineais das fêmeas (Figura 27A e 27B) exibiram formato quadrado a oval, com estrias grossas, amplamente separadas, geralmente contínuas e as vezes quebradas; arco dorsal moderadamente alto a alto, arredondado a quadrado, às vezes formando "ombros". Vulva apresentava-se em forma de fenda,

geralmente sem estrias perto das bordas laterais e os fasmídeos separados por  $29,3\mu\text{m}$  ( $25,4$  a  $31,9\mu\text{m}$ ), semelhantes a *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 e *M. incognita*, conforme verificado por Rammah e Hirschmann (1990).



**Figura 27.** Padrões perineais de fêmeas adultas de *M. morocciensis*. (Barras de escala: A:  $50\mu\text{m}$ ; B:  $20\mu\text{m}$ ).

Em relação a morfometria e alometria de juvenis de segundo estágio, na Tabela 27 são apresentados os caracteres de *M. morocciensis* mensurados no presente estudo e os valores da primeira descrição por Rammah e Hirschmann (1990). Os valores observados estão de acordo com a primeira descrição, com exceção do comprimento do estilete, o qual teve uma pequena variação, ficando acima dos valores encontrados pelos autores. Entretanto, esta variação também foi observada por Machaca-Calsin et al. (2021) em outro relato de *M. morocciensis*, corroborando com os resultados aqui e relatados.

**Tabela 27.** Dados morfométricos ( $\mu\text{m}$ ) de juvenis de segundo estágio (J2) obtidos das plantas de pessegueiro do presente estudo e valores descritos por Rammah e Hirschmann (1990). Médias seguidas pelo desvio padrão e intervalo.

<b>Medidas em <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Presente estudo</b>	<b>Rammah e Hirschmann</b>
Comprimento do corpo	389,3 $\pm$ 3,8 (377,5-425,1)	400,8 $\pm$ 3,7 (374,4-454,4)
Maior largura do corpo	15,2 $\pm$ 0,2 (14,3-16,6)	15,2 $\pm$ 0,5 (14,8-16,3)
Comprimento do estilete	13,9 $\pm$ 0,2 (12,7-14,95)	12,3 $\pm$ 0,5 (11,3-13,3)
DEGO	3,6 $\pm$ 0,1 (3,3-4,2)	3,8 $\pm$ 0,4 (3,0-4,4)
Comprimento da cauda	47,5 $\pm$ 0,6 (45,3-48,9)	52,6 $\pm$ 2,7 (46,6-58,1)
Comp. da cauda hialina	14,1 $\pm$ 0,3 (12,5-17,0)	Não mensurado
<b>Proporções</b>		
a	25,6 $\pm$ 0,4 (23,8-28,8)	26,4 $\pm$ 1,4 (23,6-30,7)
c	8,6 $\pm$ 0,1 (8,0-9,3)	7,6 $\pm$ 0,5 (6,4-8,9)

Os marcadores moleculares, especialmente os marcadores SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions) têm sido úteis e por vezes decisivos, permitindo a diferenciação precisa e rápida de algumas espécies de *Meloidogyne*. No entanto, os marcadores SCAR atualmente disponíveis (ZIJLSTRA et al. 2000) não diferenciam as espécies *M. arenaria* de *M. morocciensis* com fenótipos de isoenzimas distintos, por serem inespecíficos para essas espécies, conforme relatado por Carneiro et al. (2008), Silva et al. (2014) e Barros et al. (2018). Nesse sentido, o desenvolvimento de pares de primers espécie-específicos para *M. arenaria* e *M. morocciensis* se faz necessário para utilização desta ferramenta no diagnóstico da espécie em questão.

Decorridos 180 dias da inoculação, verificou-se a formação de galhas nas raízes das plantas (Figura 28), cujo número médio foi de 388 galhas por sistema radicular e fator de reprodução do nematoide foi 10,3. Plantas não inoculadas não formaram galhas. A presença do nematoide reduziu em 17% o peso fresco da parte aérea e 30% nas raízes (Tabela 28), comparativamente às plantas não inoculadas. Entretanto, para se inferir sobre a agressividade dessa espécie na cultura do pessegueiro e prospectar medias de manejo, demanda-se o estudo da reação dos genótipos ao nematoide, pois *M. morocciensis* é uma espécie distribuída em diferentes regiões do mundo, com ampla gama de hospedeiros e adaptável as condições climáticas onde ocorre o cultivo de pêssego. Mesmo essa espécie já ter

sido relatada em pessegueiro (RAMMAH; HIRSCHMANN, 1990), até o momento pouco se sabe sobre seu potencial de danos em fruteiras de caroço.



**Figura 28.** Mudanças de pessegueiro “seleção” (A) inoculadas e não inoculadas com *M. morocciensis*. (B) Galhas em raiz de pessegueiro. (C) Fêmea de *M. morocciensis*.

**Tabela 28.** Massa fresca da parte aérea, massa fresca de raízes e redução de massa em mudas de pessegueiro inoculadas e não inoculadas com *M. morocciensis*.

Tratamento	Massa fresca parte aérea	Massa fresca raiz
Não Inoculada	31,1 a <sup>1/</sup>	23,2 a
Inoculada	25,8 b	16,2 b
Redução (%)	17,0	30,0

<sup>1/</sup> Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando plantas inoculadas e não inoculadas.

#### 5.4. Conclusão

Registra-se pela primeira vez no Brasil a ocorrência de *Meloidogyne morocciensis* parasitando plantas de pessegueiro.

## 6. Considerações Finais

O declínio e morte da videira é sem dúvidas um dos grandes problemas para o cenário atual da viticultura no Sul do Brasil, responsável pela morte precoce de plantas com menos de 10 anos após o plantio, descapitalizando e agravando a situação econômica e financeira dos viticultores. Nesse sentido, a pesquisa brasileira não deve medir esforços na busca de estratégias para minimizar as perdas causadas por este sério problema. Essas estratégias, basicamente devem ser utilizadas em conjunto e envolvem desde a obtenção de mudas livres de patógenos, o uso da via genética, por meio do plantio de porta-enxertos resistentes ou tolerantes a fitonematoides até as boas práticas de cultivo, promovendo melhores condições para as plantas.

O presente estudo demonstrou a importância do emprego de materiais resistentes e tolerantes para reduzir os danos por fitonematoides e a predisposição ao DMV. Entretanto, esses materiais não devem ser utilizados isoladamente, ao menos em áreas mais predisponentes ao DMV, reforçando a necessidade de um planejamento inicial adequado para implantação do vinhedo, de forma a garantir que o investimento não seja inviabilizado pela mortalidade precoce de plantas, como tem-se observado no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina.

## 7. Referências Bibliográficas

ABRÃO, M. M.; MAZZAFERA, P. Efeitos do nível de inóculo de *Meloidogyne incognita* em algodoeiro. **Bragantia**, v. 60, n. 1, p. 19–26, 2001.

ABELES, F. B.; FORRENCE, L. E. Temporal and hormonal control of  $\beta$ -1,3 glucanase in *Phaseolus vulgaris* L. **Plant Physiology**, v.45, p.395-400, 1970.

AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários) - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 4/2/2022.

ALMANÇA, M.A.K; ABREU, C.M. de; SCOPEL, F.B.; BENEDETTI, M.; HALLEEN, F.; CAVALCANTI, F.R. **Evidências morfológicas da ocorrência de *Phaeomoniella chlamydospora* em videiras no estado do Rio Grande do Sul**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2013. (Comunicado Técnico, 134). Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/856487/evidencias-morfológicas-da-ocorrença-de-phaeomoniella-chlamydospora-em-videiras-no-estado-do-rio-grande-do-sul>>. Acesso em 26 jan. 2022.

AMORIM, L.; SPÓSITO, M. B.; KUNIYUKI, H. Doenças da Videira. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. Ouro Fino-MG: Agronômica Ceres, 2016. p.745-758.

ANWAR, S. A.; VAN GUNDY, S. D. Influence of four nematodes on root and shoot growth parameters in grape. **Journal of Nematology**, v. 21, n. 2, p. 276–283, 1989.

ANWAR, S.A.; MCKENRY, M.V.; FADDOUL, J. Reproduction variability of field populations of *Meloidogyne* spp. on grape rootstock. **Journal of Nematology**, v.21, p.276-283, 2000.

ANWAR, S.A.; McKENRY, M.V. Developmental response of a resistance breaking population of *Meloidogyne arenaria* on *Vitis* spp. **Journal of Nematology**, v.34, p.28-33, 2002.

ASKARY, T.H.; BANDAY, S.A.; IQBAL, U.; et al. Plant Parasitic nematode diversity in pome, stone and nut fruits. In: E. Lichtfouse. **Agroecology and Strategies for Climate Change**. Dordrecht: Netherlands, 2012, p.237-68.

ASKARY, T H.; KHALIL, A.; NAZIR, N.; KHAN, A. A.; BANDAY, S. A. Nematode Parasites of Grapevines. **Sustainable Agriculture Reviews**, v. 31, p.389-423, 2018.

AROCA, A.; RAPOSO, R. PCR-based strategy to detect and identify species of *Phaeoacremonium* causing grapevine diseases. **Applied Environmental Microbiology**, v.73, p. 2911-2918. 2007.

ASMUS, G.L.; FERRAZ, L.C.C.B. Relações entre a densidade populacional de *Meloidogyne javanica* e a área foliar, a fotossíntese e os danos causados em variedades de soja. **Nematologia Brasileira**, v.25, n.1, p.1-13, 2001.

AZEVEDO NETO A.D.; PRISCO J.T., ENÉAS-FILHO J., ABREU C.E.B., GOMES-FILHO E. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. **Environmental and Experimental Botany**, v.56, 87-94, 2006.

BACK, M. A.; HAYDOCK, P. P. J.; JENKINSON, P. Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soilborne pathogens: Nematodes and soilborne pathogens. **Plant Pathology**, v. 51, n. 6, p. 683–697, 2002.

BACKIYARANI, S.; UMA, S.; SUNDARARAJU, P.; MAYILVAGANAN, M.; SARASWATHI, M.S.; ARUNKUMAR, G. Time course expression studies during *Musa-Pratylenchus coffeae* interaction. **Indian Journal of Horticulture**, v.70, p.217-222, 2013.



BAKER, C.J.; ORLANDI, E.W. Active oxygen in plant pathogenesis. **Annual Review Phytopathology**, v.33, p.299-321, 1995.

BANERJEE, N.; HALLEM, E. A. The role of carbon dioxide in nematode behavior and physiology. **Parasitology**, v. 147, n. 8, p. 841–854, 2020.

BALASUBRAMANIAN, V.; VASHISHT, D.; CLETUS, J.; SAKTHIVEL, N. Plant  $\beta$ -1.3-glucanases: their biological functions and transgenic expression against phytopathogenic fungi. **Biotechnology Letters**, v.34, n.11, p.1983-1990, 2012.

BARÓN, M.; FLEXAS, J.; DELUCIA, E.H. Photosynthetic responses to biotic stress. In: FLEXAS, J.; LORETO, F.; MEDRANO, H. **Terrestrial photosynthesis in a changing environment: a molecular, physiological and ecological approach**. Cambridge: Cambridge University Press, 2012. p.331-350.

BARROS, A. F.; CAMPOS, V. P.; SOUZA, L. N.; COSTA, S. S.; TERRA, W. C.; LESSA, J. H. Morphological, enzymatic and molecular characterization of root-knot nematodes parasitizing vegetable crops. **Horticultura Brasileira**, v.36, n.4, p.473-479, 2018.

BEERS JR., R.F.; SIZER, I.W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **Journal of Biological Chemistry**, v.195, 133-140, 1952.

BERGESON, G. B. Concepts of nematode—Fungus associations in plant disease complexes: A review. **Experimental Parasitology**, v. 32, n. 2, p. 301–314, 1972.

BIRD, D. MCK.; JONES, J. T.; OPPERMAN, C. H.; KIKUCHI, T.; DANCHIN, E. G. J. Signatures of adaptation to plant parasitism in nematode genomes. **Parasitology**, v.142, n.S1, p. S71–S84, 2015.

BJÖRSELL, P.; EDIN, E.; VIKETOFT, M. Interactions between some plant-parasitic nematodes and *Rhizoctonia solani* in potato fields. **Applied Soil Ecology**, v. 113, p. 151–154, 2017.

BLANKENSHIP, R.E. Fotossíntese: Reações Luminosas. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. p.164-194.

BLEACH, C.M.; JONES, E.E.; JASPERS, M.V. Survey for black foot disease in New Zealand vineyards. **Australian and New Zealand Grapegrower and Winemaker**, v.525, p.53-54, 2007.

BONFIM, M. F.; MACHADO, A. C. Z.; ARAÚJO FILHO, J. V. *Pratylenchus brachyurus* (Nematoda: Pratylenchidae) on macadamia in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 7, n. 1, p. 5–6, 2012.

BOOTH, C.; STOVER, R.H. *Cylindrocarpon musae* sp. nov., commonly associated with burrowing nematode (*Radopholus similis*) lesions on bananas. **Transactions of the British Mycological Society**, v.63, n.3, p.503, 1974.

BOTTON, M.; COLLETA, V. D. Avaliação da resistência de cultivares de *Vitis rotundifolia* à pérola-da-terra (Hemiptera: Margarodidae) na região sul do Brasil. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 2, 2010.

BOTTON, M.; NONDILLO, A.; GOMES, C. B.; MELO, G.W. **Fatores associados ao declínio e morte de plantas de videira identificados em áreas infestadas pela pérola-da-terra no Rio Grande do Sul**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2020 (Circular Técnica 153). Disponível em: <[www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1126616](http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1126616)>. Acesso em: 26 fev. 2022.

BRAFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

BRZESKI, M; LOOF, P.; CHOI, Y. E. Compendium of the genus *Mesocriconema* Andrassy, 1965 (Nematoda: Criconematidae). **Nematology**, v.4, n.3, p.341-360, 2002.  
CASTAGNONE-SERENO, P.; DANCHIN, E. G. J. Parasitic success without sex - the nematode experience. **Journal of Evolutionary Biology**, v.27, n.7, p.1323-33, 2014.

BUCKI, P.; QING, X.; CASTILLO, P.; et al. The Genus *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae) in Israel: From Taxonomy to Control Practices. **Plants**, v. 9, n. 11, p. 1475, 2020.

BUCHANAN, B.B.; LORIMER, G.H.; WOLOSUIK, R.A. Fotossíntese: Reações de Carboxilação. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. p.200-236.

CABELLO, S.; LORENZ, C.; CRESPO, S.; CABRERA, J.; LUDWIG, R.; ESCOBAR, C.; HOFMAN, J. Altered sucrose synthase and invertase expression affects the local and systemic sugar metabolism of nematode-infected *Arabidopsis thaliana* plants. **Journal of Experimental Botany**, v.65, n.1, p.201–212, 2014.

CAMARGO, U. A. Porta-enxertos e cultivares de videira. **Capacitação técnica em viticultura**. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves-RS. 2008.

CAMPOS, Â. D.; FERREIRA, A. G.; HAMPE, M. M. V.; ANTUNES, I.F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E.; SILVA, J.B.; OSÓRIO, V.A. Induction of chalcone synthase and phenylalanine ammonia-lyase by salicylic acid and *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 15, n. 3, p. 129–134, 2003.

CAMPOS, A. D; SILVEIRA, E. M. L. **Metodologia para determinação da peroxidase e polifenoloxidase em plantas**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado (Comunicado Técnico, 87) 2003.

CAMPOS, Â. D.; HAMPE, M. M. V.; FERREIRA, A. G.; ANTUNES, I. F.; CASTRO, L. A. S. DE. Indução de resistência sistêmica à antracnose em feijoeiro-comum pela raça delta avirulenta de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 1, p.15-21, 2009.

CANTERI, M.G. et al. SASM-Agri - Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1, n2, p.18-24, 2001.

CAO, T.; DUNCAN, R. A.; MCKENRY, M. V.; et al. Interaction Between Nitrogen-Fertilized Peach Trees and Expression of *syrB*, a Gene Involved in Syringomycin Production in *Pseudomonas syringae*. **Phytopathology**, v. 95, n. 5, p. 581–586, 2005.

CAO, T.; MCKENRY, M.V.; DUNCAN, R.A.; DEJONG, T.M.; KIRKPATRICK, B.C.; SHACKEL, K.A. Influence of ring nematode infestation and Calcium, Nitrogen, and indoleacetic acid applications on peach susceptibility to *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. **Phytopathology**, v.96, n.6, p.608-615, 2006.

CAO, T.; KIRKPATRICK, B. C.; SHACKEL, K. A.; DEJONG, T. M. Influence of mineral nutrients and freezing-thawing on peach susceptibility to bacterial canker caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. **Fruits**, v. 66, n. 6, p. 441–452, 2011.

CARNEIRO, R.M.D.G.; CAMPOS, A.D.; PEREIRA, J.F.M.; RASEIRA, M.C.B. Avaliação de porta-enxertos de *Prunus* quanto a suscetibilidade ao nematoide-anelado e ao conteúdo de enzimas fenol oxidases. **Nematologia Brasileira**, v.22, n.1, p.32-38, 1998.

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**, v.25, p.35-44, 2001.

CARNEIRO, R.M.D.; ALMEIDA, M. R.; COFCEWICZ, E.; ABALLAY, E.; MAGUNACELAYA, J. C. *Meloidogyne ethiopica*, a major root-knot nematode parasitizing *V. vinifera* and other crops in Chile. **Nematology**, v.9, n.5, p.633-39, 2007.

CARNEIRO, R. M. D. G.; SANTOS, M. F. A.; ALMEIDA, M. R. A.; MOTA, F. C.; GOMES, A. C. M. M.; TIGANO, M. S. Diversity of *M. arenaria* using morphological, cytological and molecular approaches. **Nematology**, v.10, p.819-834, 2008.

CASTILLO, P.; VOVLAS, N. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): **diagnosis, biology, pathogenicity and management**. In: CASTILLO, P.; VOVLAS, N. Morphology of *Pratylenchus* species. Boston: Brill, 2007, p.8-35.

CAVALCANTI, F. R.; BUENO, C. J.; ALMANÇA, M. A. K. **Declínio e morte de plantas de videira**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2013. (Embrapa Uva e Vinho). Disponível em: <<https://www.embrapa.br/en/uva-e-vinho/busca-de-publicacoes/-/publicacao/859270/declinio-e-morte-de-plantas-de-videira>>. Acesso em: 20 fev. 2022.

CHITAMBAR, J.J.; RASKI, D.J. Reactions of grape rootstocks to *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne* spp. **Journal of Nematology**, v.16, n.2, p.166-17, 1984.

CONAB - Companhia Nacional do Abastecimento - Histórico mensal da uva (novembro/2020). Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/infoagro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-uva>>. Acesso em: 14/2/2022.

CONRATH, U.; CHEN, Z.; RICIGLIANO, J. R.; KLESSIG, D. F. Two inducers of plant defense responses, 2,6-dichloroisonicotinic acid and salicylic acid, inhibit catalase activity in tobacco. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 92, n. 16, p. 7143–7147, 1995.

CONSTABEL, C. P.; BARBEHENN, R. Defensive Roles of Polyphenol Oxidase in Plants. In: SCHALLER, A (Org.). **Induced Plant Resistance to Herbivory**. p.253–270, 2008. Dordrecht: Springer Netherlands.

COOLEN, W.A.; D'HERDE, C.J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent, Belgian: State of Nematology and Entomology Research Station, 1972, 77p.

COUSINS, P.; WALKER, M. A. Genetics of resistance to *Meloidogyne incognita* in crosses of grape rootstocks. **Theoretical and Applied Genetics**, v.105, p.802-807, 2003.

CORDERO, M. A.; ROBBINS, R. T.; SZALANSKI, A. Taxonomic and molecular identification of *Mesocriconema* and *Criconemoides* species (Nematoda: Criconematidae). **Journal of Nematology**, v.44, n.4, p.399-426, 2012.

DAMBROS, R. N.; DALBÓ, M. A.; ARIOLI, C. J.; VEIGA, M. D. Control of grapevine decline with the use of drains and ridges. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.38, n.2, 2016.

DANGL, G. S.; MENDUM, M. L.; YANG, J.; WALKER, M. A.; PREECE, J. E. Hybridization of cultivated *Vitis vinifera* with wild *V. californica* and *V. girdiana* in California. **Ecology and Evolution**, v.5, n.23, p. 5671-5684, 2015.

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**, v. 59, n. 6, p. 1305–1313, 2008.

DE GRISSE, **Contribution to the morphology and the systematic of the Criconematidae (Taylor, 1936) Thorne, 1949**. 1969. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias). Universidade de Gent, Bélgica.

DE LEY, I.; LI, I. Q.; KALOSHIA, I.; MCKENRY, M.V.; DE LEY, P. Population Genetics of *Mesocriconema xenoplax* through combined analysis of molecular and morphological markers. **Proceedings of the 27<sup>th</sup> International Symposium of the European Society of Nematologists**, p.54, 2005.

DEVI, A.; PONNUSWAMI, V.; SUNDARARAJU, P.; et al. Mechanism of resistance in banana cultivars against root lesion nematode, *Pratylenchus coffeae*. **Indian Journal of Nematology**, v. 37, p.138-144, 2007.

DEY, A.; CHAN, C. K. W.; THOMAS, C. G.; CUTTER, A. D. Molecular hyperdiversity defines populations of the nematode *Caenorhabditis brenneri*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.110, n.27, p.11056-11060, 2013.

DHAKSHINAMOORTHY, S.; MARIAMA, K.; ELSEN, A.; DE WAELE, D. Phenols and lignin are involved in the defense response of banana (*Musa*) plants to *Radopholus similis* infection. **Nematology**, v. 16, n. 5, p. 565–576, 2014.

DIVERS, M. **Caracterização da nematofauna em vinhedos no sul do Brasil e resistência à *Mesocriconema xenoplax* (Nematoda: Criconematidae) em porta-enxertos**. 2015. 84 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade: Fitopatologia). Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande Do Sul.

DIVERS, M.; GOMES, C. B.; MENEZES-NETTO, A. C.; LIMA-MEDINA, I.; NONDILLO, A.; BELLÉ, C.; ARAÚJO-FILHO, J. V. Diversity of plant-parasitic nematodes parasitizing grapes in Southern Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v.44, n.5, p.401-408, 2019.

DROPKIN, V.H. How Nematodes induce Disease. In: HORSEFALL, J.G.; COWLING, E.B. (Ed.). **Plant disease an advanced treatise**. v.4 Academic Press, New York, p.219-238, 1980.

DUNFORD, S. Translocação no floema. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. p.272-300.

DZHAVAKHIYA, V. G.; OZERETSKOVSKAYA, O. L.; ZINOVYEVA, S. V. Immune response. **Comprehensive and Molecular Phytopathology**. p.265-314, 2007.

EBERHARD, S.; FINAZZI, G.; WOLLMAN, E.A. The dynamics of photosynthesis. **Annual Review of Genetics**, v. 17, p.463-515, 2008.

EMBRAPA UVA E VINHO. Cultivares de Uva e Porta-enxertos de alta sanidade (IAC 313 Tropical). Disponível em: <[https://www.embrapa.br/uva-e-vinho/cultivares-e-porta-enxertos/porta-enxertos/-/asset\\_publicishe/content/porta-enxerto-iac-313-tropical/1355300](https://www.embrapa.br/uva-e-vinho/cultivares-e-porta-enxertos/porta-enxertos/-/asset_publicishe/content/porta-enxerto-iac-313-tropical/1355300)> Acesso em: 15 de abril de 2022.

ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Isozyme phenotypes for the identifications of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, v.22, n.1, p.10-15, 1990.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. L. Arlequin suite v.3.5.2.2: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, n. 3, p. 564–567, 2010.

FERRAZ, L.C.C.B.; BROWN, D.J.F. **An Introduction to Nematodes: Plant Nematology**. Sofia: Pensoft Publishers, 2002. v.1, 236p.

FERREIRA, T.; RASBAND, W. ImageJ User Guide. **IJ 1.46r**, p. 185, 2012.

FERRIS, H.; MCKENRY, M. V.; JAFFEE, B. A.; ANDERSON, C. E.; JUURMA, A. Population Characteristics and Dosage Trajectory Analysis for *Mesocriconema xenoplax* in California *Prunus* Orchards. **Journal of Nematology**, v. 36, n. 4, p. 505–516, 2004.

FERRIS, H.; ZHENG, L.; WALKER, M. A. Resistance of Grape Rootstocks to Plant-parasitic Nematodes. **Journal of Nematology**, v.44, n.4, p.377–386, 2012.

FLIS, Ł.; DOBOSZ, R.; RYBARCZYK-MYDŁOWSKA, K.; et al. First report of the lesion nematodes: *Pratylenchus brachyurus* and *Pratylenchus delattrei* on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants in Cape Verde. *Helminthologia*, v. 55, n. 1, p. 88–94, 2018.

FORGE, T.; SMIT, R.; NEILSEN, D.; NEILSEN, G. Potential impacts of the ring nematode, *Mesocriconema xenoplax*, on grapevines in British Columbia: a microplot study. **Journal of Nematology**, v. 52, p. 1-7, 2020.

FRANK, H. A.; YOUNG, A. J.; BRITTON, G.; COGDELL, R. J. (ORGS.). **The Photochemistry of Carotenoids**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1999.

GALET, P. **Grape varieties and rootstocks varieties**. Paris: Oenoplurimédia, 1998. 315p.

GALLOTTI, G.J.M. Causas do declínio da videira. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.2, n.4, p.19-21, 1989.



GARCION, C.; MÉTRAUX, J.-P. Salicylic Acid. In: P. Hedden; S. G. Thomas (Orgs.); **Annual Plant Reviews Volume 24: Plant Hormone Signaling**. p.229-255, 2007. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.

GARRIDO, L. DA R.; SÔNEGO, O. R.; GOMES, V. N. Fungos associados com o declínio e morte de videiras no estado do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 322–324, 2004.

GENEIOUS - Bioinformatics Software for Sequence Data Analysis v.2022.1. Disponível em: <<https://www.geneious.com/download/>>. Acesso em: 5/4/2022.

GERAERT, E. The **Criconematidae of the world: Identification of the Family Criconematidae (Nematoda)**. Gent: Academia Press, 2010.

GODFREY, G.H. A destructive root disease of pineapples and other plants due to *Tylenchus brachyurus* n. sp. **Phytopathology**, v.19, p.611-629, 1929.

GOMES, C.B. Problemas causados por nematoides em fruteiras de clima temperado. In: Congresso Brasileiro de Nematologia, 23., Marília, 2001. **Anais**. Garça: Sociedade Brasileira de Nematologia, 2001. p.45-51.

GOMES, C.B.; CAMPOS, A.D. **Sistema de produção de pêssego de mesa na região da Serra Gaúcha**. EMBRAPA Uva e Vinho. Versão Eletrônica, jan. 2003. Disponível em:< <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/PessegodeMesaRegiaoSerraGaucha/nemato.htm>> Acesso em: 11 jan. 2022.

GOMES, C. B.; CAMPOS, A. D. C.; COSTA, F. A. **Levantamento de nematoides fitoparasitas associados a pomares de videira em declínio da Serra Gaúcha**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 110), 16p, 2009.

GOMES, C.B.; CARNEIRO, R.M.D. Nematoides fitoparasitas do pessegueiro. In: RASEIRA, M.C.B.; PEREIRA, J.F.M.; CARVALHO, J.L.C. **Pessegueiro**. Brasília: Embrapa, 2014. p. 487-508.

GOMES, C. B.; SOMAVILLA, L.; QUECINI, V. **Resistência de porta-enxertos e cultivares copa de videira ao nematóide-das-galhas (*Meloidogyne* spp.)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2014. (Embrapa Clima Temperado. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 183). Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/991041/resistencia-de-porta-enxertos-e-cultivares-copa-de-videira-ao-nematoide-das-galhas-meloidogyne-spp.>>. Acesso em: 26 jan. 2022.

GOULART, A.M.C. **Reprodução de danos causados por *Pratylenchus brachyurus* (Nemata: Pratylenchidae) em cultivares de algodoeiro**. 1997. 68f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) -Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo.

GOULART, A.M.C. (2008). **Aspectos gerais sobre nematóides-das-lesões-radiculares** (gênero *Pratylenchus*). Documentos 219 (Planaltina: Embrapa Cerrados).

GOVERSE, A.; SMANT, G. The Activation and suppression of plant innate immunity by parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, v.52, p.243-265, 2014.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K., 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v.59, 309-314, 1977.

GRAHAM, T.W. **Nematode root rot of tobacco and other plants**. South California Experiment Station. Bulletin nº 390. 1951, 25p.

GRAMAJE, D.; ÚRBEZ-TORRES, J. R.; SOSNOWSKI, M. R. Managing Grapevine Trunk Diseases with Respect to Etiology and Epidemiology: Current Strategies and Future Prospects. **Plant Disease**, v. 102, n. 1, p. 12–39, 2018.

GRIFFITHS, C.A.; PAUL, M.J.; FOYER, C.H. Metabolite transport and associated sugar signaling systems underpinning source/sink interactions. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v.1857, n.10, p. 1715-1725, 2016.

HANDOO, Z. A.; CARTA, L. K.; SKANTAR, A. M.; CHITWOOD, D. J. Description of *Globodera ellingtonae* n. sp. (Nematoda: Heteroderidae) from Oregon. **Journal of Nematology**, v. 44, n. 1, p. 40–57, 2012.

HARRIS, A. R. Resistance of Some *Vitis* Rootstocks to *Xiphinema index*. **Journal of Nematology**, v. 15, n. 3, p. 405–409, 1984.

HASTINGS, R.J.; BOSHER, J.E. A study of the pathogenicity of the meadow nematode and associated fungus *Cylindrocarpon radicum*. **Canadian Journal of Research**, v.16, n.6, p.225-229, 1938.

HAYES, M.A.; DAVIES, C.; DRY, I.B. Isolation, functional characterization, and expression analysis of grapevine (*Vitis vinifera* L.) hexose transporters: differential roles in sink and source tissues. **Journal of Experimental Botany**, v.58, p.1985-1997, 2007.

HERNANDEZ, J.L.; MARTINS, F.P.; JÚNIOR, M.J.P. **Uso de porta-enxertos: Tecnologia simples e fundamental na cultura da videira Campinas** (2011). Disponível em: < [http://www.iac.sp.gov.br/imagem\\_informacoestecnologicas/6.pdf](http://www.iac.sp.gov.br/imagem_informacoestecnologicas/6.pdf) > Acesso em: 31 mar. 2022.

HICKEL, E. R.; BOTTON, M.; SCHUCK, E. **Pragas da videira e seu controle no Estado de Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri (Boletim Técnico, 77), 137p., 2010.

HOHMANN-MARRIOTT, M. F.; BLANKENSHIP, R. E. Evolution of Photosynthesis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 62, n. 1, p. 515–548, 2011.

HOLBEIN, J.; GRUNDLER, F. M. W.; SIDDIQUE, S. Plant basal resistance to nematodes: an update. **Journal of Experimental Botany**, v.67, n.7, p.2049-2061, 2016.

HOWLAND, A.D.; SCHREINER, R.P.; ZASADA, I. Spatial distribution of plant-parasitic nematodes in semi-arid *Vitis vinifera* vineyards in Washington. **Journal of Nematology**, v.46, p.321-330, 2014.

HUNG, C.; ROHDE, R. A. Phenol accumulation related to resistance in tomato to infection by root-knot and lesion nematodes. **Journal of Nematology**, v. 5, n. 4, p. 253–258, 1973.

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

HUSSEY, R.S.; MIMS, C. W.; WESCOTT, S. W. Ultrastructure of root cortical cells parasitized by the ring nematode *Criconemella xenoplax*. **Protoplasma**, v.167, p.55-65, 1992.

HUSSEY, R.S.; WILLIAMSON, V.M. Physiological and molecular aspects of nematode parasitism. In: BARKER, K.R. **Plant and Nematode Interactions**. Hardcover: American Society of agronomy, 1998. p.87-108.

HUSSON, F.; JOSSE, J.; LE, S.; MAZET, J. 'FactorMineR' (2018). Disponível: <<http://mirror.its.sfu.ca/mirror/CRAN/web/packages/FactoMineR/FactoMineR.pdf>>. Acesso em 5/3/2022.

HRYCAN, J.; HART, M.; BOWEN, P.; FORGE, T.; ÚRBEZ-TORRES, J. R. Grapevine trunk disease fungi: their roles as latent pathogens and stress factors that favour disease development and symptom expression. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 59, n. 3, p. 395-424, 2020.

HYODO, H.; YANG, S. F. Ethylene-enhanced synthesis of phenylalanine ammonia-lyase in pea seedlings. **Plant Physiology**, v. 47, n. 6, p. 765–770, 1971.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - Levantamento Sistemático da Produção Agrícola Estatística da Produção Agrícola (dezembro/2021). Disponível em: <[https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag\\_2021\\_dez.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag_2021_dez.pdf)> Acesso em: 14/2/2022.

JAGDALE, G. B.; SEVERNS, P. M.; BRANNEN, P. M.; CLINE, W. O. Occurrence and Distribution of Plant-Parasitic Nematodes on *Muscadine* Grapes in Georgia and North Carolina. *Plant Health Progress*, v. 20, n. 3, p. 194–199, 2019.

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

JESUS, A. M. D.; PEDROSA, E. M. R.; REIS, J. B. R. D. S.; PORTO, A. C. F. Morphological and morphometric characterization of *Pratylenchus* species in sugarcane cropping areas of Pernambuco State. **Revista Caatinga**, v.33, n.3, p.599-607, 2020.

KAPLAN, I.; SARDANELLI, S.; REHILL, B. J.; DENNO, R. F. Toward a mechanistic understanding of competition in vascular-feeding herbivores: an empirical test of the sink competition hypothesis. **Oecologia**, v.166, n.3, p.627–636, 2011.

KASSAMBARA, A.; MUNDT, F. 'Factorextra1.0.7 (2020). Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/factorextra>>. Acesso em: 5/3/2022.

KAUR, H.; THAKUR, N.; KHAN, L. Morphological variations of genus *Mesocriconema xenoplax* Andrassy, 1965 on cotton – a study from Malwa region of Punjab. **International Journal of Advanced Biological Research**, v.2, n.3, p.535-539, 2012.

KEBEISH, R.; NIESSEN, M.; TRIRUVEEDHI, K.; BARI, R.; HIRSCH, H.J.; ROSENKRANZ, R.; STÄBLER, N.; SCHÖNFELD, B. KREUZALER, F.; PETERHÄNSEL, C. Chloroplastic photorespiratory bypass increases photosynthesis and biomass production in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Biotechnology*, v.25, p.593-599, 2007.

KESBA, H. H.; EL-BELTAGI, H. S. Biochemical changes in grape rootstocks resulted from humic acid treatments in relation to nematode infection. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 2, n. 4, p. 287–293, 2012.

KIONTKE, K. C.; FÉLIX, M.-A.; AILION, M.; et al. A phylogeny and molecular barcodes for Caenorhabditis, with numerous new species from rotting fruits. **BMC Evolutionary Biology**, v. 11, n. 1, p. 339, 2011.

KOCH, K.E. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.47, p.509-540, 1996.

KOEN, H. Notes on the host range, ecology and population dynamics of *Pratylenchus brachyurus*. **Nematologica**, v.13, p.118-124, 1967.

KOENNING, S.R.; BARKER, K.R. Soybean photosynthesis and yield as influenced by *Heterodera glycines*, soil type and irrigation. *Journal of Nematology*, Lake Alfred, v.27, p.51-62, 1995.

KUHN, P. A. **Diversidade da nematofauna em pomares de videira com sintomas de declínio e agressividade de *Mesocriconema xenoplax***. 2015. 103f. Dissertação (Mestrado em agronomia: Agricultura e Ambiente). Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande Do Sul.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v.35, p.1547-1549, 2018.

LA MONDIA, J.A. Interaction of *Pratylenchus penetrans* and *Rhizoctonia fragariae* in strawberry black root rot. **Journal of Nematology**, v. 35, p.17-22, 2003.

LAMICHHANE, J. R.; VENTURI, V. Synergisms between microbial pathogens in plant disease complexes: a growing trend. **Frontiers in Plant Science**, v.6, 2015.

LAZZAROTO, J.J.; TAFFAREL, J.C.; MONTEIRO, R. Caracterização e análise de aspectos sociais, tecnológicos e econômico-financeiros da viticultura Gaúcha e Catarinense. Embrapa Uva e Vinho (Documentos, 97), 54p. 2016.

LEE, H.-A. et al. Current understanding of plant nonhost resistance. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 30, p. 5-15, 2017.

LIANG, L.-M.; ZOU, C.-G.; XU, J.; ZHANG, K.-Q. Signal pathways involved in microbe–nematode interactions provide new insights into the biocontrol of plant-parasitic nematodes. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 374, n. 1767, p. 20180317, 2019.

LINSELL, K. J.; RILEY, I. T.; DAVIES, K. A.; OLDACH, K. H. Characterization of Resistance to *Pratylenchus thornei* (Nematoda) in Wheat (*Triticum aestivum*): Attraction, Penetration, Motility, and Reproduction. **Phytopathology**, v.104, n.2, p.174–187, 2014.

LIU, Q.; LUO, L.; ZHENG, L. Lignins: Biosynthesis and Biological Functions in Plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 2, p. 335, 2018.

LO, C.S.C.; NICHOLSON, R.L. Phenolic compounds and their importance in plant disease. In: LEITE, B. **Physiology, biochemistry, and molecular biology of plant-pathogen interactions**. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz – FEALQ, p.285-303, 2008.

LOBNA, H.; AYMEN, E. M.; HAJER, R.; NAIMA, M.-B.; NAJET, H.-R. Biochemical and plant nutrient alterations induced by *Meloidogyne javanica* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* co-infection on tomato cultivars with differing level of resistance to *M. javanica*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 148, n. 2, p. 463–472, 2017.

LOOF, P.A. Taxonomic studies on the genus *Pratylenchus* (Nematoda). **Tijdschr Over Plantenziekten**, v.66, p.29-90, 1960.

LOWNSBERY, B. F.; MOODY, E. H.; MORETTO, A.; NOEL, G. R.; BURLANDO, T. M. Pathogenicity of *Macroposthonia xenoplax* to walnut. **Journal of Nematology**, v.10, p.232-236, 1978.

MA, R.; XIAO, Y.; LV, Z.; et al. AP2/ERF Transcription Factor, li049, Positively Regulates Lignan Biosynthesis in *Isatis indigotica* through Activating Salicylic Acid Signaling and Lignan/Lignin Pathway Genes. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1361, 2017.

MACHACA-CALSIN, C. P.; DA SILVA, W. R.; DA SILVA GRINBERG, P.; DE ARAÚJO FILHO, J. V.; GOMES, C. B. Occurrence of *Meloidogyne morocciensis* parasitizing beetroot in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 160, n. 1, p. 239–242, 2021.

MACHADO, A.; INOMOTO, M.M. Host-status of eighteen vegetable crops for *Pratylenchus brachyurus*. *Nematropica*, v.31, n.2, p.257-263, 2001.

MACHADO, A. C. Z.; SIQUEIRA, K. M. S.; FERRAZ, L. C. C. B.; et al. Characterization of Brazilian populations of *Pratylenchus brachyurus* using morphological and molecular analyses. *Tropical Plant Pathology*, v. 40, n. 2, p. 102–110, 2015.

MAI, W.F.; MULLIN, P.G. Plant-parasitic nematodes: a pictorial key to genera. 1996. 277p.

MCCLURE, M.A. 1977. *Meloidogyne incognita*: a metabolic sink. **Journal of Nematology**, v.9, p.88-90, 1977.

MACDONALD, M. J.; D’CUNHA, G. B. A modern view of phenylalanine ammonia lyase. **Biochemistry and Cell Biology**, v. 85, n. 3, p. 273–282, 2007.

MCINTYRE, K. E.; BUSH, D. R.; ARGUESO, C. T. Cytokinin Regulation of Source-Sink Relationships in Plant-Pathogen Interactions. **Frontiers in Plant Science**, v.12, p.677585, 2021.

MCKEEN, C. D.; MOUNTAIN, W. B. Synergism between *Pratylenchus penetrans* (COBB) and *Verticillium albo-atrum* R. & B. in eggplant wilt. **Canadian Journal of Botany**, v. 38, n. 5, p. 789–794, 1960.



MCKENRY, M.V.; KRETSCH, J.O.; ANWAR, S.A. Interactions of selected *Vitis* cultivar with endoparasitic nematodes. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.52, p.310-316, 2001.

MCKENRY, M. V.; ANWAR, S. A. Nematode and grape rootstock interactions including an improved understanding of tolerance. **Journal of Nematology**, v.38, p.312-318, 2006.

MALLOSSINI, U.; D'ERRICO, G.; VARNER, M.; D'ERRICO, F. P.; SOPPELSA, O. The vertical and horizontal distribution of *Mesocriconema xenoplax* (Raski, 1952) in the Trentino vineyards (Northern Italy). **Redia**, v.44, p.153-157, 2011.

MAGUNACELAYA, J. C.; MANCILLA, R.; GONZÁLEZ-BERNAL, S. Reduced *Meloidogyne ethiopica* Parasitism in *Vitis vinifera* Grafted on Six Resistant Rootstocks Under Field and Greenhouse Conditions. **Plant Disease**, v. 101, n. 6, p. 924–928, 2017.

MAZZOLA, M. Elucidation of the Microbial Complex Having a Causal Role in the Development of Apple Replant Disease in Washington. **Phytopathology**, v. 88, n. 9, p. 930–938, 1998.

MELLO, L. M. R. DE. Vitivinicultura brasileira: panorama 2016. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1086551>>. Acesso em: 4/2/2022.

MENEZES-NETTO, A. C.; SOUZA, A. L. K. D.; ARIOLI, C. J.; SOUZA, E. L.; HICKEL, E. R.; ANDRADE, E. R.; SCHUCK, E.; ARAUJO FILHO, J. V.; GARDIN, J. P. P.; DALBÓ, M. A.; DAMBRÓS, R. N. **Declínio e morte de videiras no estado de Santa Catarina: causas e alternativas de controle**. Florianópolis: Epagri (Boletim Técnico 175), 81p., 2016.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, p. 405–410, 2002.

MONDELLO, V.; SONGY, A.; BATTISTON, E.; et al. Grapevine Trunk Diseases: A Review of Fifteen Years of Trials for Their Control with Chemicals and Biocontrol Agents. **Plant Disease**, v. 102, n. 7, p. 1189–1217, 2018.

MONTEIRO, A. R.; FERRAZ, L. C. C. B.; INOMOTO, M. M. **Nemata - Curso de nematoides parasitos de plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1995.

MOREIRA, F. M.; MADINI, A.; MARINO, R.; et al. Genetic linkage maps of two interspecific grape crosses (*Vitis* spp.) used to localize quantitative trait loci for downy mildew resistance. **Tree Genetics & Genomes**, v. 7, n. 1, p. 153–167, 2011.

MUNAWAR, M.; POWERS, T. O.; TIAN, Z.; et al. Description and Distribution of Three Criconeematid Nematodes from Hangzhou, Zhejiang Province, China. **Journal of Nematology**, v. 50, n. 2, p. 183-206, 2017.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**. v.22, 867-880, 1981.

NAVES, R. de L. **Diagnose e Manejo de Doenças Causadas por Fitonematoides na Cultura da Videira**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 57). Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/diagnose-e-manejo-de-doencas-causadas-por-fitonematoides-na-cultura-da-videira>>. Acesso em: 26 jan. 2022.

NEAL, J.C. **The root-knot disease of peach, orange and other plants in Florida, U.S.** Department of Agriculture, Division of Entomology, Boletim 20, 1889, 31p.

NICOL, J.M.; van HEESWIJCK, R. Grapevine nematodes: types, symptoms, sampling and control. **Australian Grapegrower and Winemaker**, v.402, p.139-151, 1997.

NICOL, J. M.; STIRLING, G. R.; ROSE, B. J.; MAY, P.; HEESWIJCK, R. Impact of nematodes on grapevine growth and productivity: current knowledge and future directions, with special reference to Australian viticulture. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v.5, n.3, p. 109-127, 1999.

NORONHA, M. DE A.; MUNIZ, M. DE F. S.; CRUZ, M. DE M.; et al. *Meloidogyne* and *Pratylenchus* species in sugarcane fields in the state of Alagoas, Brazil. **Ciência Rural**, v. 47, n. 2, 2017.

NYCZEPIR, A.P.; ZEHR, E.I.; LEWIS, S.A.; HARSHMAN, D.C. Short life of peach trees induced by *Criconemella xenoplax*. **Plant Disease**, v.67, n.5, p.507-508, 1983.

NYCZEPIR, A. P. Host suitability of an endophyte-friendly tall fescue grass to *Mesocriconema xenoplax* and *Pratylenchus vulnus*. **Nematropica**, v.41, p.45-51, 2011.

NYGUYEN, C.V. **Genetic diversity of the grapevine vector nematode *Xiphinema index* and application to optimize the resistance strategy**. (Tese de doutorado) .2018. 196p. Université Côté d'Azur.

OLIEN, W.C.; GRAHAM, C.J.; HARDIN, M.E.; BRIDGES JR, W.C. Peach rootstock differences in ring nematode tolerance related to effects on tree dry weight, carbohydrate and prunasin contents. **Physiologia Plantarum**, v.94 p. 177-123. 1995.

OLMO, H. P. The potential role of (*vinifera x rotundifolia*) hybrids in grape variety improvement. **Experientia**, v. 42, n. 8, p. 921–926, 1986.

OLSON, M.; HARRIS, T.; HIGGINS, R.; MULLIN, P.; POWERS, K; OLSON, S.; POWERS, T. O. Species delimitation and description of *Mesocriconema nebraskense* n. sp. (Nematoda: Criconematidae), a morphologically cryptic, parthenogenetic species from North American grasslands. **Journal of Nematology**, v. 49, n. 1, p. 42–66, 2017.

OOSTENBRINK, M. Major characteristic of reaction between nematodes and plants. **Mededelingen and bouwhogeschool**, v.66, n.4, p.1-46, 1966.

PANDEY, R. K. Physiological and biochemical changes in susceptible and resistant rice cultivars induced by root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola*. **Indian Phytopathology**, v. 73, n. 2, p. 321–328, 2020.

PENG, Y.; MOENS, M. Host resistance and tolerance to migratory plant-parasitic nematodes. **Nematology**, v. 5, n. 2, p. 145–177, 2003.

PINKERTON, J.N.; FORGE, T.A.; IVORS, K.L.; INGHAN, R.E. Plant-parasitic nematodes associated with grapevines, *Vitis vinifera*, in Oregon vineyards. **Journal of Nematology**, v.31, n.4S, p.624-634, 1999.

PINKERTON, J.N.; SCHREINER, R.P.; IVORS, K.L.; VASCONCELOS, M.C. Effects of *Mesocriconema xenoplax* on *Vitis vinifera* and associated mycorrhizal fungi. **Journal of Nematology**, v.36, n.3, p.193-201, 2004.

PINKERTON, J. N.; VASCONCELOS, M. C.; SAMPAIO, T. L.; SHAFFER, R. G. Reaction of grape rootstocks to ring nematode *Mesocriconema xenoplax*. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.56, p.377-385, 2005.

PINOCHET, J.; CISNEROS, T. Seasonal fluctuations of nematode populations in three Spanish vineyards. **Rev. Nematology**. v.9, 391-398, 1986.

PINOCHET, J.; VERDEJO, S.; SOLER, A.J. Host range of a population of *Pratylenchus vulnus* in commercial fruit, nut, citrus, and grape rootstocks in Spain. **Journal of Nematology**, v.24, p.693-698, 1992.

POWELSON, M.L.; ROWE, R.C. Biology and management of early dying of potatoes. **Annual Review of Phytopathology**, v.31, p.111-126, 1993.

POWERS, T. O.; BERNARD, E. C.; HARRIS, T.; HIGGINS, R.; OLSON, O.; LODEMA, M.; MULLIN, P.; SUTTON, L.; POWERS, K. S. COI haplotype groups in *Mesocriconema* (Nematoda: Criconematidae) and their morphospecies associations. **Zootaxa**, v. 3827, n. 2, p. 101, 2014.

POWERS, T.; HARRIS, T.; HIGGINS, R.; MULLIN, P.; POWERS, K. An 18S rDNA Perspective on the Classification of Criconematoidea. **Journal of Nematology**, v.49, n.3, p.236-244, 2017.

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

PUERARI, H. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; MOURA, M. M.; et al. Reação de porta-enxertos de videira a *Pratylenchus brachyurus* e *Pratylenchus zaeae*. **Tropical Plant Pathology**, v. 37, n. 3, p. 220–222, 2012.

PUILLANDRE, N.; LAMBERT, A.; BROUILLET, S.; ACHAZ, G. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation: ABGD, automatic barcode gap discovery. **Molecular Ecology**, v. 21, n. 8, p. 1864–1877, 2012.

QUEIROZ, K. A unified concept of species and its consequences for the future of taxonomy. **Proceedings of the California Academy of Sciences**, v.56, n.2, p.196-215, 2005.

R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria: The R Studio Foundation for Statistical Computing, version 4.0 (2022). Disponível em: <https://www.R-project.org/>

RAO, M. V.; PALIYATH, G.; ORMROD, D. P.; MURR, D. P.; WATKINS, C. B. Influence of Salicylic Acid on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Production, Oxidative Stress, and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Metabolizing Enzymes (Salicylic Acid-Mediated Oxidative Damage Requires H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). **Plant Physiology**, v. 115, n. 1, p. 137–149, 1997.

RAHAMAN, M. M.; ZWART, R. S.; THOMPSON, J. P. Constitutive and Induced Expression of Total Phenol and Phenol Oxidases in Wheat Genotypes Ranging in Resistance/Susceptibility to the Root-Lesion Nematode *Pratylenchus thornei*. **Plants**, v. 9, n. 4, p. 485, 2020.

RAHMAN, M.; PUNJA, Z. K. Factors Influencing Development of Root Rot on Ginseng Caused by *Cylindrocarpon destructans*. **Phytopathology**, v.95, n.12, p.1381-1390, 2005.

RAMMAH, A.; HIRSCHMANN, H. 1990. *Meloidogyne morocciensis* n. sp. (Meloidogyninae), a root-knot nematode from Morocco. **Journal of Nematology**, v.22, p.279-291, 1990.

RASERA, N.G. **Análise da variabilidade genética de *Cylindrocarpon* spp. associados ao pé-preto da videira com marcadores RAPD**. 2005. 25f. Relatório de estágio (Conclusão do Curso Superior de Tecnologia em Viticultura e Enologia) – Centro Federal de Educação – Bento Gonçalves/RS.

RASKI, D.J. On the morphology of *Criconemoides* Taylor, 1936 with descriptions of six new species (Nematoda: Criconematidae). **Helminthological Society**, v. 19, n.2, p85- 99, 1952.

RASKI, D. J.; RADEWALD, R. D. Reproduction and symptomology of certain ectoparasitic nematodes on roots of Thompson Seedless grape. **Plant Disease Reporter**, v.42, p.941-943, 1958.

REIS, P.; PIERRON, R.; LARIGNON, P.; et al. Vitis Methods to Understand and Develop Strategies for Diagnosis and Sustainable Control of Grapevine Trunk Diseases. **Phytopathology**, v. 109, n. 6, p. 916–931, 2019.

REISCH, B. I.; OWENS, C. L.; COUSINS, P. S. Grape. In: M. L. Badenes; D. H. Byrne (Orgs.); **Fruit Breeding**. p.225-262, 2012. Boston, MA: Springer US.

REICHERT, L.J.; RASEIRA, M.C.B.; SACARANARI, C. **Relatório de avaliação dos impactos das tecnologias geradas pela EMBRAPA**. EMBRAPA Clima Temperado. Versão Eletrônica, jan. 2014. Disponível em:<[https://bs.sede.embrapa.br/2013/relatorios/climatemperado\\_2013\\_pessegorubi\\_mel.p](https://bs.sede.embrapa.br/2013/relatorios/climatemperado_2013_pessegorubi_mel.p)> Acesso em: 11 jan. 2022.

ROBINSON, A. F. Optimal Release Rates for Attracting *Meloidogyne incognita*, *Rotylenchulus reniformis*, and Other Nematodes to Carbon Dioxide in Sand. **Journal of Nematology**, v. 27, n. 1, p. 42–50, 1995.

RUMBOS, I.; RUMBOU, A. Fungi associated with esca and young grapevine decline in Greece. **Phytopathologia Mediterranea**, v.40, n.3, p.330-335, 2001.

SANTO, G. S.; W. J. BOLANDER. Effects of *Macrophostonia xenoplax* on the growth of Concord grape. **Journal of Nematology**, St. Paul, v. 9, p. 215–217, 1977.

SANTOS, P. R.; VIANA, A. P.; SANTOS, E. A.; et al. Molecular genetic diversity in segregates of *Vitis*: implications for the breeding of grapevine aiming at resistance to *Pratylenchus brachyurus*. **Euphytica**, v.215, n.4, p.78, 2019.

SANTOS, R. F. dos; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; HARAKAWA, R.; GARRIDO, L.R.; REGO, C. Characterization of *Campylocarpon pseudofasciculare* associated with black foot of grapevine in southern Brazil. **Phytopathologia Mediterranea**, v.53, n.3, p. 406-415, 2014a.

SANTOS, R. F. dos; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; HECKLER, L. I.; FINGER, G.; MACIEL, C. G.; HARAKAWA, R.; GARRIDO, L. da R. First report of *Ilyonectria macrodidyma* associated with black foot disease of grapevine in Brazil. **Plant Disease**, v.98, n.1, p. 156, 2014b.

SAS. **SAS Software**. Version 9.1. Cary-North Carolina: SAS Institute, 2016.

SAUCET, S. B.; VAN GHELDER, C.; ABAD, P.; DUVAL, H.; ESMENJAUD, D. Resistance to root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. in woody plants. **New Phytologist**, v. 211, n. 1, p. 41–56, 2016.

SCANDALIOS, J. C. Genetic control of multiple forms of enzymes in plants: A review. **Biochemical Genetics**, v.3, p.37-79, 1969.

SCHREINER, P. R.; PINKERTON, J. N. Ring nematodes (*Mesocriconema xenoplax*) alter root colonization and function of arbuscular mycorrhizal fungi in grape roots in a low P soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 7, p. 1870–1877, 2008.

SCHREINER, R. P.; ZASADA, I. A.; PINKERTON, J. N. Consequences of *Mesocriconema xenoplax* Parasitism on Pinot noir Grapevines Grafted on Rootstocks of Varying Susceptibility. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 63, n. 2, p. 251–261, 2012.

SENTELHAS, P. C. Aspectos climáticos para viticultura tropical. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 19, n. 194, p. 9-14, 1998.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, p. 1–26, 2012.

SHERSON, S.M.; ALFORD, H.L.; FORBES, S.M.; WALLACE, G.; SMITH, S.M. Roles of cell-wall invertases and monosaccharide transporters in the growth and development of Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany**, v.54, p.525-531, 2003.

SCHOLEFIELD, P.; MORISON, J. Assessment of Economic Cost of Endemic Pests & Diseases on the Australian Grape & Wine Industry (GWR 08/04). Final report to the Grape & Wine Research & Development Corporation, Adelaide, SA, Australia. 2010

SCHUCK, E.; ANDRADE, E.R.; GALLOTTI, G.J.M.; DALBÓ, M.A. Novas alternativas na busca de soluções para o controle do declínio da videira. **Agropecuária Catarinense**, v.6, n.4, p.48-50, 1993.

SCHUCK, M. R.; BIASI, L. A.; MARIANO, A. M.; et al. Obtaining interspecific hybrids, and molecular analysis by microsatellite markers in grapevine. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.11, p.1480–1488, 2011.



SILVA, J. G. P.; FURLANETTO, C.; ALMEIDA, M. R. A.; ROCHA, D. B.; MATTOS, V. S.; CORREA, V. R.; CARNEIRO, R. M. D. G. Occurrence of *Meloidogyne* spp. in Cerrado Vegetations and Reaction of Native Plants to *Meloidogyne javanica*. **Journal of Phytopathology**, v.162, n.8, p.449-455, 2014.

SILVA, W.R.; CALSIN, C.P.M.; CORREIA, S.G.; MANSKE, G.M.; MENEZES-NETTO, A.; GOMES, C.B. Nematofauna associada a vinhedos em declínio no estado de Santa Catarina. In: Congresso Brasileiro De Nematologia, 36, 2019, Caldas Novas. Nematoides: da Ciência ao Campo. [Anais, palestras e resumos]. Campinas: Infobibos, 2019.

SMITHIES, O. Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal human adults. **Biochemistry Journal**, n.61, 629-641p. 1955.

SOMAVILLA, L.; GOMES, C. B.; ANTUNES, L. E. C.; OLIVEIRA, R. P. de; CARNEIRO, R. M. D. G. Reação de Diferentes Frutíferas a *Meloidogyne ethiopica*. **Nematologia Brasileira**, v.33, n.3, p.252-255, 2009.

SOMAVILLA, L. **Levantamento, caracterização do nematoide-das-galhas em videira nos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina e estudo da resistência de porta-enxertos a *Meloidogyne* spp.** 2011. 83f. Tese (Doutorado em Fitossanidade) -Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

SOUZA JUNIOR, F. J. C.; ASSUNÇÃO, M. C. Detection of *Pratylenchus zae* and *P. brachyurus* parasitizing plants from the caatinga biome, Ceará, Brazil. **Journal of Nematology**, v. 53, n. 1, p. 1–5, 2021.

SUBBOTIN, S. A.; CROZZOLI, R.; LAMBERTI, F.; VOVLAS, N. Phylogeny of Criconematina Siddiqi, 1980 (Nematoda: Tylenchida) based on morphology and D2-D3 expansion segments of the 28S-rRNA gene sequences with application of a secondary structure model. **Nematology**, v. 7, n. 6, p. 927–944, 2005.

SUJATHA, K.; MEHTA, U.K. Changes in the activity of peroxidase and polyphenol oxidases in sugarcane roots after infection with *Pratylenchus zae* and *Meloidogyne javanica*. **International Journal of Nematology**, v.8, n.1, p.102-104, 1998.

SUNDARARAJU, P.; PANDISUBA, K. Biochemical changes in banana plants induced by *Pratylenchus coffeae* and *Meloidogyne incognita*. *Indian Journal of Nematology*, v.36, p.256-259, 2006.

SUTHERLAND, J. Corky root disease of Douglas-fir seedlings: pathogenicity of the nematode *Xiphinema bakeri* alone and in combination with the fungus *Cylindrocarpon destructans*. **Canadian Journal of Forest Research**, v.7, p.41-46, 1977.

STOREY, S. G.; MALAN, A. P.; HUGO, H. J. Nematode Pests of Grapevine. In: FOURIE, H.; SPAULL, V. W.; JONES, R. K.; DANEEL, M. S.; WAELE, D. (Orgs.). **Nematology in South Africa: A View from the 21st Century**. Springer International Publishing, 2017, p.325-343.

TANG, C. Q.; LEASI, F.; OBERTEGGER, U.; et al. The widely used small subunit 18S rDNA molecule greatly underestimates true diversity in biodiversity surveys of the meiofauna. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 40, p. 16208–16212, 2012.

TANG, Y.; ZHANG, Z.; LEI, Y.; et al. Cotton WATs Modulate SA Biosynthesis and Local Lignin Deposition Participating in Plant Resistance Against *Verticillium dahliae*. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 526, 2019.

TAYLOR, D. P.; NETSCHER, C. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. **Nematologica**, v.20, p.268–269, 1974.

TÉLIZ, D.; LANDA, B.B.; RAPOPORT, H.F.; CAMACHO, F.P.; JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M.; CASTILLO, P. Plant-parasitic nematodes infecting grapes in Southern Spain and susceptible reaction to root-knot nematodes of rootstocks reported as moderately resistant. **Plant Disease**, v.91, n.9, p.1147-1154, 2007.

THOMPSON, J. P.; BRENNAN, P. S.; CLEWETT, T. G.; SHEEDY, J. G.; SEYMOUR, N. P. Progress in breeding wheat for tolerance and resistance to root-lesion nematode (*Pratylenchus thornei*). **Australasian Plant Pathology**, v.28, n.1, p.45, 1999.

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

TONIETTO, J.; MANDELLI, F. **Clima**: regiões vitivinícolas brasileiras, uvas para processamento. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 134p.

TORRES, M. A.; JONES, J. D. G.; DANGL, J. L. Reactive Oxygen Species Signaling in Response to Pathogens. **Plant Physiology**, v. 141, n. 2, p. 373–378, 2006.

TOWNSEND, J.L.; STOBBS, L.; CARTES, R. Ultrastructural pathology of cells affected by *Pratylenchus penetrans* in alfafa roots. **Journal of Nematology**, v.21, n.4, p.530-539, 1989.

TRUDGILL, D.L.; BLOK, V.C. Apomictic, polyphagous root knot nematodes: Exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.39, p.53-77, 2001.

ÚRBEZ-TORRES, J. R.; HAAG, P.; BOWEN, P.; O’GORMAN, D. T. Grapevine Trunk Diseases in British Columbia: Incidence and Characterization of the Fungal Pathogens Associated with Black Foot Disease of Grapevine. *Plant Disease*, v.98, n.4, p.456-468, 2014.

VEGA-CALLO, R. A.; TAMO-ZEGARRA, J. J.; BELLE, C. Reaction of grapevine rootstocks and cultivars to *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria* and *M. hapla*. **AgriScientia**, v. 38, n. 1, p. 93–98, 2021.

VIANA, A. P.; RESENDE, M. D. V. DE; RIAZ, S.; WALKER, M. A. Genome selection in fruit breeding: application to table grapes. **Scientia Agricola**, v.73, n.2, p.142-149, 2016.

VIGLIERCHIO, D.R. Carbon dioxide sensing by *Panagrellus silusiae* and *Ditylenchus dipsaci*. **Revue de Nématologie**, v.13, P.425-432, 1990.

VIEIRA, P.; MOWERY, J.; EISENBACK, J. D.; SHAO, J.; NEMCHINOV, L. G. Cellular and Transcriptional Responses of Resistant and Susceptible Cultivars of Alfalfa to the Root Lesion Nematode, *Pratylenchus penetrans*. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 971, 2019.

VLOT, A. C.; DEMPSEY, D. A.; KLESSIG, D. F. Salicylic Acid, a Multifaceted Hormone to Combat Disease. **Annual Review of Phytopathology**, v. 47, n. 1, p. 177–206, 2009.

ZASADA, I.A.; RIGA, E.; PINKERTON, J.N.; WILSON, J. H.; SCHREINER, R.P. Plant-parasitic nematodes associated with grapevines, *Vitis vinifera*, in Washington and Idaho. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.63, n.4, p.522-528, 2012.

WALKER, M.A.; WOLPERT, J.A.; VILAS, E.P.; GOHEEN, A.C.; LIDER, L.A. Resistant rootstocks may control fanleaf degeneration of grapevine. **California Agriculture**, v.43, p.13-14, 1989.

WALKER, G. **Nematodes associated with grapevine foundation plantings at Loxon**. Australian Grape Grower and Winemaker 381, p. 34-40, 1995.

WALKER, G. E.; STIRLING, G. R. Plant-parasitic nematodes in Australian viticulture: key pests, current management practices and opportunities for future improvements. **Australasian Plant Pathology**, v. 37, n. 3, p. 268, 2008.

WASHINGTON STATE UNIVERSITY; OREGON STATE UNIVERSITY; UNIVERSITY OF IDAHO. Field Guide for Integrated Pest Management in Pacific Northwest Vineyards. A Pacific Northwest Extension Publication. Disponível em: <<https://pubs.extension.wsu.edu/field-guide-for-integrated-pest-management-in-pacific-northwest-vineyards-pdf-download>> Acesso em: 25 fev. 2022.

WELLBURN, A. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, v.144, p.307-313. 1994.

WHEELER, T. A.; MADDEN, L. V.; ROWE, R. C.; RIEDEL, R. M. Modeling of Yield Loss in Potato Early Dying Caused by *Pratylenchus penetrans* and *Verticillium dahliae*. **Journal of Nematology**, v. 24, n. 1, p. 99–102, 1992.

WOULTS, W. **Fauna of New Zealand 55: Criconematina (Nematoda: Tylenchida)**. Manaaki Whenua Press, 2006.

WUYTS, N.; SWENNEN, R.; DE WAELE, D. Effects of plant phenylpropanoid pathway products and selected terpenoids and alkaloids on the behavior of the plant-parasitic nematodes *Radopholus similis*, *Pratylenchus penetrans* and *Meloidogyne incognita*. **Nematology**, v. 8, n. 1, p. 89–101, 2006.

WURST, S.; WAGENAAR, R.; BIERE, A.; VAN DER PUTTEN, W. H. Microorganisms and nematodes increase levels of secondary metabolites in roots and root exudates of *Plantago lanceolata*. **Plant and Soil**, v. 329, n. 1–2, p. 117–126, 2010.

YANG, C.-T.; VIDAL-DIEZ DE ULZURRUN, G.; GONÇALVES, A. P.; et al. Natural diversity in the predatory behavior facilitates the establishment of a robust model strain for nematode-trapping fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 12, p. 6762–6770, 2020.

YEMM, E.W.; WILLIS, A.J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v.57, n.3, p.508-514, 1954.

ZASADA, I.A.; RIGA, E.; PINKERTON, J.N.; WILSON, J. H.; SCHREINER, R.P. Plant-parasitic nematodes associated with grapevines, *Vitis vinifera*, in Washington and Idaho. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.63, n.4, p.522-528, 2012.

ZASADA, I.A.; FERRIS, H.; MCKENRY, M.V. Nematode Parasites of Grapevines. In: WILCOX, W.F.; GUBLER, W.D.; UYEMOTO, J.K. (eds) **Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests**, Second Edition. APS Press. 2015, 240p.

ZAVALIEV, R.; UEKI, S.; EPEL, B.L.; CITOVSKEY, V. Biology of callose ( $\beta$ -1.3-glucan) turnover at plasmodesmata. **Protoplasma**, v.248, n.1, p.117-130, 2011.

ZHANG, Y.; YANG, G.; FANG, M.; et al. Comparative Analyses of Mitochondrial Genomes Provide Evolutionary Insights into Nematode-Trapping Fungi. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 617, 2020.

ZIJLSTRA, C.; DONKERS-VENNE, D. T. H. M.; FARGETTE, M. Identification of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* using sequence characterized amplified regions (SCAR) based PCR assays. **Nematology**, v.2, p.847-53, 2000.

## 8. Anexos

**Anexo 1.** Mensurações e proporções de fêmeas de *Mesocriconema rusticum* coletadas no Sul do Brasil.

Medidas (µm)	Amostra 2 (n = 4)	Amostra 7 (n = 2)	Amostra 369 (n = 3)
L	542,4 (556,9 – 387,8)	537,0 (560,4 – 507,6)	486,5 (552,5 – 444,8)
St	55,8 (54,83 – 62,8)	54,6 (58,6 – 50,5)	54,8 (58,2 – 50,7)
Ø	39,3 (46,9 – 37,7)	43,3 (50,0 – 40,5)	48,4 (54,8 – 39,4)
Oes	103,0 (109,1 – 96,9)	104,8 (112,5 – 101,4)	108,8 (115,7 – 102,2)
t	21,0 (24,9 – 18,2)	22,4 (25,1 – 20,4)	23,7 (25,5 – 19,3)
L'	519,3 (527,9 – 497,3)	526,6 (589,3 – 482,2)	516,9 (525,1 – 509,4)
V	512,9 (519,6 – 488,4)	518,2 (582,4 – 475,0)	505,2 (515,9 – 508,7)
VL	33,9 (36,4 – 29,4)	34,9 (39,9 – 32,5)	31,4 (32,5 – 26,2)
VA	5,6 (6,1 – 5,2)	5,2 (6,8 – 5,0)	5,5 (5,1 – 6,6)
VB	25,8 (31,9 – 24,7)	30,1 (32,1 – 23,0)	27,3 (31,2 – 25,2)
RB	5,6 (6,1 – 5,2)	6,1 (6,4 – 6,7)	6,4 (6,6 – 5,8)
<b>Nº anéis</b>	-	-	-
R	99,0 (101 – 98)	98,0 (102,0 – 94,0)	96,0 (104,0 – 94,0)
RSt	15,0 (16,0 – 14,0)	13,5 (15,0 – 12,0)	12,8 (14,0 – 12,0)
RV	6,0 (6,0 – 6,0)	7,3 (8,0 – 6,0)	7,0 (8,0 – 6,0)
Ran	5,0 (5,0 – 5,0)	5,7 (6,0 – 5,0)	5,5 (6,0 – 5,0)
Rvan	1,0 (1,0 – 1,0)	1,5 (2,0 – 1,0)	1,5 (2,0 – 1,0)
Roes	26,0 (28,0 – 25,0)	24,3 (25,0 – 23,0)	24,0 (27,0 – 22,)
Rex	31,0 (32,0 – 30,0)	28,7 (30,0 – 28,0)	29,3 (31,0 – 28,0)
RA	3,0 (5,0 – 2,0)	3,0 (4,0 – 1,0)	3,0 (5,0 – 2,0)
<b>Índices</b>	-	-	-
a	11,5 (13,2 – 10,0)	10,6 (12,5 – 9,5)	12,0 (13,0 – 9,2)
b	4,2 (4,6 – 3,8)	3,8 (4,0 – 3,6)	4,3 (4,5 – 4,1)
c	24,1 (30,2 – 19,3)	18,4 (20,0 – 16,3)	24,0 (27,5 – 17,0)
d	0,6 (0,8 – 0,6)	0,8 (0,9 – 0,7)	0,7 (0,8 – 0,6)
z	8,0 (9,8 – 6,5)	7,5 (8,3 – 6,7)	8,1 (8,5 – 7,9)
<b>Porcentagem</b>	-	-	-
V%	93,0 (95,1 – 91,9)	93,0 (94,0 – 92,1)	94,0 (95,1 – 92,4)
V'	97,9 (98,5 – 96,7)	98,4 (98,8 – 97,6)	98,2 (98,7 – 97,6)
St%L	12,5 (16,0 – 10,8)	13,4 (15,0 – 12,1)	12,4 (12,6 – 11,7).
St%Oes	50,2 (56,2 – 48,5)	51,7 (59,3 – 47,3)	53,4 (56,9 – 50,8)
VA%t	28,4 (32,8 – 28,2)	29,6 (42,1 – 19,7)	32,1 (46,0 – 28,0)

**Anexo 2.** Mensurações e proporções de fêmeas de *Mesocriconema curvatum* coletadas no Sul do Brasil.

<b>Medidas (µm)</b>	<b>Amostra 7 (n = 7)</b>	<b>Amostra 9 (n = 4)</b>	<b>Amostra 378 (n = 5)</b>
L	536,1 (558,6 – 483,7)	500,6 (546,0 – 450,6)	492,1 (514,7 – 432,6)
St	61,7 (68,7 – 56,0)	67,0 (63,3 – 52,2)	58,1 (61,2 – 52,7)
Ø	47,6 (54,2 – 41,4)	46,4 (51,4 – 34,4)	45,6 (48,7 – 43,0)
Oes	125,0 (128,0 – 123,0)	121,0 (122,3 – 118,3)	123,5 (126,3 – 117,0)
t	25,3 (28,6 – 16,0)	21,8 (26,3 – 14,5)	24,3 (27,0 – 16,3)
L'	501,3 (503,2 – 425,1)	501,8 (516,6 – 426,2)	503,8 (504,7 – 502,3)
V	497,0 (517,3 – 473,1)	479,8 (454,4 – 415,8)	464,8 (478,7 – 415,0)
VL	35,1 (37,3 – 27,1)	30,8 (34,8 – 24,8)	27,3 (29,3 – 24,0)
VA	11,3 (13,4 – 6,6)	12,5 (12,9 – 12,2)	7,1 (11,0 – 6,4)
VB	43,5 (48,1 – 40,9)	41,4 (48,2 – 33,3)	42,3 (44,7 – 40,0)
RB	6,5 (6,7 – 6,2)	6,3 (6,5 – 6,1)	5,7 (6,2 – 5,4)
<b>Nº anéis</b>	-	-	-
R	98,0 (103,0 – 96,0)	96,0 (100,0 – 92,0)	96,5 (102,0 – 94,0)
RSt	14,0 (16,0 – 13,0)	13,8 (16,0 – 12,0)	13,8 (15,0 – 12,0)
RV	6,8 (7,0 – 6,0)	7,3 (8,0 – 7,0)	6,8 (7,0 – 6,0)
Ran	5,0 (5,0 – 5,0)	5,3 (6,0 – 5,0)	5,5 (6,0 – 5,0)
Rvan	1,8 (2,0 – 1,2)	2,0 (2,0 – 2,0)	1,3 (2,0 – 1,0)
Roes	25,8 (28,0 – 24,0)	24,8 (28,0 – 20,0)	25,8 (28,0 – 24,0)
Rex	30,0 (31,0 – 29,0)	30,3 (31,0 – 29,0)	29,5 (31,0 – 28,0)
RA	6,0 (7,0 – 2,0)	5,0 (6,0 – 4,0)	6,0 (5,0 – 4,0)
<b>Índices</b>	-	-	-
a	11,1 (11,8 – 10,3)	10,9 (12,3 – 8,4)	10,3 (11,0 9,8)
b	3,9 (4,0 – 3,5)	3,7 (4,0 – 3,5)	3,7 (3,8 – 3,5)
c	23,4 (25,0 – 2,4)	21,0 (22,5 – 18,5)	20,2 (20,8 – 19,4)
d	0,7 (0,8 – 0,7)	0,7 (0,7 – 0,7)	0,8 (0,8 – 0,7)
z	7,8 (8,2 – 7,3)	7,8 (8,4 – 7,3)	7,3 (7,8 – 7,1)
<b>Porcentagem</b>	-	-	-
V%	93,8 (94,3 – 93,1)	93,2 (93,7 – 92,5)	93,5 (94,1 – 92,9)
V'	97,5 (98,9 – 97,0)	97,9 (98,0 – 97,8)	98,3 (99,0 – 97,8)
St%L	12,9 (13,7 – 12,2)	12,8 (13,7 – 12,0)	13,7 (14,2 – 12,9)
St%Oes	49,5 (52,8 – 46,0)	48,0 (51,2 – 42,4)	49,9 (51,5 – 49,0)
VA%t	41,2 (51,8 – 25,0)	43,9 (52,8 – 38,7)	39,7 (42,0 – 38,1)



**Anexo 3.** Mensurações e proporções de fêmeas de *Mesocriconema xenoplax* coletadas no Sul do Brasil

<b>Medidas (µm)</b>	<b>Mayer (n = 15)</b>	<b>Amostra 7 (n = 6)</b>	<b>Amostra 8 (n = 15)</b>
L	655,9 (717,6 – 565,3)	615,9 (658,6 – 563,6)	606,6 (675,3 – 520,9)
St	80,7 (86,5 – 41,3)	76,7 (82,6 – 69,3)	77,7 (85,3 – 70,1)
Ø	59,3 (68,6 – 52,3)	51,7 (64,2 – 43,5)	60,8 (72,3 – 53,4)
Oes	154,9 (173,8 – 135,8)	155,6 (165,1 – 141,8)	150,8 (161,9 – 139,8)
t	29,8 (37,3 – 22,1)	27,5 (30,9 – 22,1)	29,0 (40,2 – 22,2)
L'	627,0 (718,4 – 550,6)	584,1 (630,2 – 525,1)	579,5 (565,8 – 506,7)
V	613,4 (706,3 – 535,2)	577,7 (617,3 – 524,2)	566,5 (644,5 – 489,9)
VL	40,1 (48,0 – 30,2)	38,2 (41,3 – 32,0)	40,4 (55,8 – 30,2)
VA	12,4 (14,3 – 10,9)	9,9 (13,3 – 6,3)	13,0 (18,6 – 11,2)
VB	42,1 (47,8 – 36,6)	39,9 (48,1 – 37,1)	38,0 (46,3 – 32,6)
RB	6,2 (7,1 – 5,5)	6,3 (6,7 – 5,6)	6,1 (6,8 – 5,6)
<b>Nº anéis</b>	-	-	-
R	101,0 (110,0 – 97,0)	99,0 (100,0 – 96,0)	102,0 (114,0 – 97,0)
RSt	14,3 (16,0 – 11,0)	13,9 (15,0 – 13,0)	15,1 (17,0 – 12,0)
RV	7,7 (9,0 – 7,0)	6,6 (7,0 – 6,0)	7,4 (10,0 – 6,0)
Ran	5,5 (6,0 – 5,0)	5,0 (5,0 – 5,0)	5,2 (7,0 – 4,0)
Rvan	2,0 (2,0 – 2,0)	1,6 (2,0 – 1,0)	2,1 (3,0 – 2,0)
Roes	24,3 (25,0 – 23,0)	25,1 (26,0 – 23,0)	25,3 (27,0 – 24,0)
Rex	28,6 (30,0 – 27,0)	29,1 (30,0 – 27,0)	29,7 (30,0 – 28,0)
RA	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)
<b>Índices</b>	-	-	-
a	11,1 (12,1 – 9,4)	12,0 (13,1 – 10,3)	10,0 (12,0 – 9,2)
b	4,2 (4,8 – 3,6)	4,0 (4,2 – 3,5)	4,0 (4,7 – 3,6)
c	22,3 (25,6 – 18,9)	22,7 (28,6 – 18,3)	21,3 (26,3 – 14,5)
d	0,7 (1,0 – 0,6)	0,7 (0,8 – 0,6)	0,7 (0,8 – 0,6)
z	8,1 (9,5 – 7,0)	8,0 (8,3 – 7,5)	7,8 (8,6 – 6,5)
<b>Porcentagem</b>	-	-	-
V%	93,5 (96,3 – 90,6)	93,8 (95,0 – 93,0)	93,4 (95,8 – 89,8)
V'	97,8 (98,6 – 96,6)	98,0 (99,0 – 97,5)	97,7 (98,4 – 96,5)
St%L	12,4 (14,2 – 10,5)	12,5 (13,3 – 12,0)	12,9 (15,4 – 11,7)
St%Oes	52,1 (55,2 – 47,3)	49,4 (51,7 – 46,0)	51,6 (55,9 – 45,7)
VA%t	42,6 (58,7 – 31,6)	35,9 (46,7 (31,6)	44,8 (56,9 – 40,6)

**Anexo 4.** Mensurações e proporções de fêmeas de *Mesocriconema xenoplax* coletadas no Sul do Brasil

<b>Medidas (µm)</b>	<b>Amostra 9 (n = 11)</b>	<b>Amostra 11 (n = 9)</b>	<b>Amostra 378 (n = 10)</b>
L	607,5 (658,7 – 539,5)	651,0 (709,7 – 606,0)	578,0 (652,5 – 502,0)
St	78,0 (83,3 – 74,0)	82,5 (86,9 – 78,2)	79,2 (86,8 – 73,7)
Ø	52,7 (57,5 – 44,6)	54,8 (60,3 – 51,0)	52,8 (57,9 – 44,7)
Oes	148,7 (157,5 – 137,2)	161,4 (175,5 – 148,5)	151,1 (159,0 – 144,8)
t	27,3 (30,5 – 23,4)	28,5 (31,5 – 23,3)	27,1 (35,0 – 23,2)
L'	580,1 (635,3 – 514,6)	544,9 (678,6 – 531,3)	550,9 (625,8 – 477,5)
V	569,6 (625,0 – 505,1)	611,4 (664,6 – 566,9)	540,9 (613,4 – 468,6)
VL	37,9 (41,6 – 33,7)	39,6 (45,1 – 35,7)	37,1 (44,2 – 31,5)
VA	9,9 (13,5 – 6,1)	8,1 (13,8 – 6,1)	7,8 (12,3 – 5,5)
VB	38,2 (44,2 – 30,1)	40,2 (41,8 – 38,3)	40,1 (44,7 – 34,9)
RB	6,4 (6,8 – 5,7)	6,5 (6,9 – 6,1)	6,2 (6,7 – 5,5)
<b>Nº anéis</b>	-	-	-
R	96,5 (108,0 – 91,0)	98,6 (105,0 – 95,0)	97,8 (103,0 – 95,0)
RSt	13,6 (15,0 – 12,0)	13,4 (15,0 – 12,0)	14,3 (16,0 – 13,0)
RV	6,6 (7,0 – 6,0)	6,4 (8,0 – 6,0)	6,5 (7,0 – 6,0)
Ran	5,1 (6,0 – 5,0)	5,1 (6,0 – 5,0)	5,2 (6,0 – 5,0)
Rvan	1,5 (2,0 – 1,0)	1,3 (2,0 – 1,0)	1,3 (2,0 – 1,0)
Roes	23,6 (26,0 – 22,0)	24,4 (26,0 – 22,0)	25,4 (27,0 – 23,0)
Rex	27,7 (30,0 – 26,0)	29,0 (30,0 – 26,0)	29,6 (31,0 – 27,0)
RA	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)
<b>Índices</b>	-	-	-
a	11,6 (13,3 – 10,2)	11,9 (12,9 – 10,5)	11,0 (12,4 – 10,0)
b	4,1 (4,3 – 3,9)	4,0 (4,4 – 3,5)	3,8 (4,2 – 3,4)
c	22,4 (28,1 – 20,3)	23,0 (27,7 – 20,8)	21,6 (24,4 – 18,0)
d	0,7 (0,8 – 0,7)	0,7 (0,8 – 0,7)	0,7 (0,8 – 0,6)
z	7,8 (8,4 – 7,3)	7,9 (9,1 – 7,3)	7,3 (8,1 – 6,5)
<b>Porcentagem</b>	-	-	-
V%	93,7 (94,9 – 93,2)	95,9 (97,5 – 93,4)	93,6 (94,4 – 92,4)
V'	98,2 (98,8 – 97,8)	97,8 (98,3 – 97,2)	98,2 (98,8 – 97,6)
St%L	12,9 (13,7 – 11,9)	12,7 (13,7 – 11,0)	13,8 (15,5 – 12,3)
St%Oes	52,6 (57,0 – 48,6)	51,3 (56,1 – 46,4)	52,4 (58,8 – 49,7)
VA%t	36,0 (51,7 – 22,4)	28,4 (44,2 – 20,6)	28,7 (42,2 – 18,1)

**Anexo 5.** Valores de *P* associados aos coeficientes de correlação de Pearson para as variáveis analisadas de genótipos de videira cultivados em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com *Mesocriconea xenoplax*, sob condições de casa de vegetação.

Variável	Infestado (+N)						Não-infestado (-N)				
	CHT <sup>1/</sup>	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT
CHT	-	0,0394	0,0144	0,0004	0,0291	0,0073	>0001	0,0170	0,0032	0,0377	0,0131
MFPA	-	-	>0001	0,0246	0,0081	0,0343	0,0414	0,0072	0,0404	0,1831	0,068
MFRA	-	-	-	0,0053	0,0057	0,0389	0,0096	0,0064	0,0011	0,0827	0,0073
CLF	-	-	-	-	0,047	0,0142	0,0013	0,0283	0,0006	0,0082	0,0439
CRT	-	-	-	-	-	0,0103	0,0022	0,0052	0,0052	>0001	>0001
FR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CHT	-	-	-	-	-	-	-	0,0500	0,0265	0,0214	0,0221
MFPA	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0011	0,0227	0,0052
MFRA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0138	0,0426
CLF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>0001
CRT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<sup>1/</sup>CHT: Carboidratos totais; MFPA: Massa fresca da parte aérea; MFRA: Massa fresca da raiz; CFL: Clorofila total; CRT: Carotenoides; FR: Fator de reprodução do nematoide.

**Anexo 6.** Valores de *P* associados aos coeficientes de correlação de Pearson para as variáveis analisadas em quatro genótipos de videira cultivados em solo infestado (+N) e não infestado (-N) com *Mesocriconema xenoplax*, sob condições de casa de vegetação.

Variável	IAC 313 Tropical						1111-21					
	CHT <sup>1/</sup>	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR
CHT	-	0,041	0,0072	0,009	0,011	0,021	-	0,034	0,009	0,026	0,009	0,021
MFPA	-	-	0,040	0,022	0,025	0,007	-	-	0,032	0,006	0,031	0,007
MFRA	-	-	-	0,009	0,011	0,022	-	-	-	0,022	0,022	0,006
CLF	-	-	-	-	0,042	0,018	-	-	-	-	0,005	0,003
CRT	-	-	-	-	-	0,016	-	-	-	-	-	0,004
FR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Variável	Chardonnay						Salt Creek					
	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR
CHT	-	0,007	0,0490	0,009	0,024	0,011	-	0,039	0,006	0,041	0,042	0,004
MFPA	-	-	0,044	0,035	0,050	0,009	-	-	0,022	0,026	0,041	0,050
MFRA	-	-	-	0,046	0,049	0,010	-	-	-	0,028	0,008	0,018
CLF	-	-	-	-	0,006	0,018	-	-	-	-	0,015	0,024
CRT	-	-	-	-	-	0,041	-	-	-	-	-	0,027
FR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<sup>1/</sup>CHT: Carboidratos totais; MFPA: Massa fresca da parte aérea; MFRA: Massa fresca da raiz; CFL: Clorofila total; CRT: Carotenoides; FR: Fator de reprodução do nematoide.

**Anexo 7.** Valores de *P* associados aos coeficientes de correlação de Pearson para a atividade enzimática e o fator de reprodução de *Mesocriconema xenoplax* em genótipos de videira, sob condições de casa de vegetação.

	Variáveis							
	POD	PPO	CAT	APX	SOD	FAL	β-GLU	FR
POD	-	<0001	0,0169	0,048	0,029	0,001	0,019	0,005
PPO	-	-	0,007	0,001	0,014	<0001	0,003	0,002
CAT	-	-	-	<0001	0,002	0,005	0,022	<0001
APX	-	-	-	-	<0001	<0001	<0001	<0001
SOD	-	-	-	-	-	<0001	<0001	<0001
FAL	-	-	-	-	-	-	<0001	<0001
β-GLU	-	-	-	-	-	-	-	<0001
FR	-	-	-	-	-	-	-	-

**POD:** Peroxidase; **PPO:** Polifenoloxidase; **CAT:** Catalase; **APX:** Ascorbato peroxidase; **SOD:** Superóxido dismutase; **FAL:** Fenilalanina amônia-liase; **β-GLU:** β-1,3-glucanase; **FR:** Fator de reprodução do nematoide.

**Anexo 8.** Mensurações ( $\mu\text{m}$ ) e proporções de 20 fêmeas dos isolados de *Pratylenchus brachyurus* coletadas em vinhedos com sintomas de declínio em três municípios do Estado de Santa Catarina.

<b>Medidas (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Pinheiro Preto</b>	<b>Tangará</b>	<b>Videira</b>
L	665,3 (729,9 - 598,6)	481,4 (620,9 – 388,9)	614,3 (710,9 – 527,2)
$\emptyset\text{Lb}$	8,8 (9,2 – 8,4)	8,9 (9,2 – 8,5)	8,8 (9,1 – 8,4)
AltLb	4,4 (4,6 – 3,9)	4,2 (4,6 – 3,7)	4,2 (4,6 – 3,9)
St	20,4 (21,9 – 18,8)	19,5 (20,7 – 18,3)	20,0 (21,5 – 18,4)
NLb	2,0 (2,0 – 2,0)	2,0 (2,0 – 2,0)	2,0 (2,0 – 2,0)
$\emptyset\text{bSt}$	4,9 (5,2 – 4,5)	5,0 (5,3 – 4,4)	4,9 (5,4 – 4,5)
AbSt	3,6 (3,8 – 3,1)	3,7 (4,0 – 3,0)	3,7 (3,9 – 3,5)
DGO	3,2 (3,5 – 3,0)	3,1 (3,2 – 2,8)	3,0 (3,2 – 2,9)
$\emptyset$	32,2 (35,6 – 28,6)	17,8 (19,4 – 15,4)	18,0 (20,0 – 15,2)
V	531,5 (607 – 427,9)	407,9 (526,2 – 330,7)	547,0 (627,0 – 488,05)
Oes	78,8 (95,4 – 63,1)	83,6 (98,6 – 73,8)	78,7 (98,3 – 65,4)
VB	25,7 (29,3 – 23,8)	24,2 (24,8 – 23,8)	25,0 (26,6 – 22,3)
VA	57,3 (59,4 – 51,6)	64,5 (66,2 – 55,7)	59,2 (63,0 – 56,5)
$\emptyset\text{a}$	16,6 (17,7 – 15,2)	19,6 (21,7 – 17,5)	19,8 (21,0 – 17,3)
T	34,6 (41,6 – 27,7)	31,4 (34,5 – 26,6)	32,9 (36,6 – 26,6)
<b>Proporções</b>	-	-	-
$\emptyset\text{Lb/ AltLb}$	2,0 (2,2 – 1,8)	2,1 (2,3 – 2,0)	2,1 (2,2 – 2,0)
a	20,7 (23,8 – 19,0)	27,3 (39,1 – 21,5)	22,2 (26,5 – 18,3)
b	8,5 (10,4 – 7,4)	5,8 (7,8 – 4,6)	7,9 (10,0 – 6,0)
c	19,3 (23,0 – 15,7)	15,4 (20,4 – 12,1)	18,9 (23,3 – 14,4)
c'	2,1 (2,4 – 1,7)	1,6 (1,8 – 1,4)	1,7 (1,8 – 1,4)
<b>Porcentagem</b>	-	-	-
V%	79,8 (83,2 – 71,5)	84,9 (90,7 – 75,2)	89,8 (92,4 – 74,5)
St%L	3,1 (3,4 – 2,7)	4,1 (5,3 – 3,1)	3,3 (3,7 – 2,7)
St%Oes	26,2 (32,7 – 20,6)	23,5 (26,2 – 19,7)	25,6 (30,7 – 21,8)
<b>Morfologia</b>	-	-	-
Bulbos St	Arredondados	Arredondados	Arredondados
Cauda	Truncada	Truncada	Truncada

**Anexo 9.** Mensurações ( $\mu\text{m}$ ) e proporções de 20 fêmeas dos isolados de *Pratylenchus zeae* coletadas em vinhedos com sintomas de declínio em três municípios do Estado de Santa Catarina.

Medidas ( $\mu\text{m}$ )	Pinheiro Preto	Tangará	Videira
L	600,9 (641,5 – 550,7)	518,9 (586,2 – 486,4)	556,5 (646,6 – 521,4)
$\emptyset\text{Lb}$	8,9 (9,1 – 8,7)	9,0 (9,6 – 8,8)	9,0 (9,2 – 8,8)
AltLb	2,4 (2,6 – 2,3)	2,4 (2,4 – 2,3)	2,6 (3,3 – 2,3)
St	14,9 (16,6 – 14,1)	16,1 (18,9 – 14,4)	14,8 (15,5 – 14,2)
NLb	3,0 (3,0 – 3,0)	3,0 (3,0 – 3,0)	3,0 (3,0 – 3,0)
$\emptyset\text{bSt}$	5,1 (5,2 – 5,0)	5,1 (5,2 – 5,0)	5,0 (5,1 – 4,9)
AbSt	2,8 (3,1 – 2,6)	2,8 (3,0 – 2,6)	4,9 (5,1 – 3,7)
DGO	2,7 (2,9 – 2,6)	2,8 (3,0 – 2,6)	2,9 (3,0 – 2,8)
$\emptyset$	30,4 (31,8 – 28,6)	16,9 (18,0 – 14,9)	18,5 (21,0 – 16,9)
V	430,4 (467,8 – 400,6)	404,4 (441,0 – 383,2)	431,4 (469,2 – 380,6)
Oes	65,3 (80,7 – 59,5)	72,2 (84,5 – 61,2)	74,5 (88,7 – 62,3)
VB	27,1 (29,1 – 26,3)	27,8 (29,1 – 26,9)	28,3 (29,9 – 27,0)
VA	138,8 (149,7 – 129,9)	146,3 (152,3 – 138,2)	142,3 (149,3 – 136,7)
$\emptyset\text{a}$	15,0 (16,0 – 13,9)	15,9 (17,1 – 14,6)	16,8 (17,4 – 15,6)
T	31,7 (35,2 – 28,5)	32,9 (35,2 – 30,3)	35,8 (42,9 – 34,9)
<b>Proporções</b>	-	-	-
$\emptyset\text{Lb}/ \text{AltLb}$	3,7 (3,9 – 3,3)	3,8 (4,0 – 3,7)	3,6 (4,0 – 2,1)
a	19,8 (20,9 – 17,3)	30,7 (34,0 – 27,9)	20,6 (24,9 – 18,1)
b	9,4 (10,4 – 6,8)	7,2 (5,4 – 6,5)	7,7 (8,9 – 6,2)
c	19,1 (20,5 – 15,6)	15,8 (18,3 – 13,8)	18,6 (19,3 – 14,4)
c'	2,1 (2,3 – 1,8)	2,1 (2,2 – 2,0)	2,1 (2,5 – 1,8)
<b>Porcentagem</b>	-	-	-
V%	71,6 (72,9 – 69,8)	78,1 (81,2 – 73,5)	76,6 (78,6 – 71,6)
St%L	2,5 (2,7 – 2,2)	3,1 (4,1 – 2,8)	2,6 (3,0 – 2,3)
St%Oes	23,2 (25,6 – 18,3)	22,5 (28,1 – 19,4)	20,2 (23,6 – 16,1)
<b>Morfologia</b>	-	-	-
Bulbos St	Achatados	Achatados	Achatados
Cauda	Arredondada	Arredondada	Arredondada

**Anexo 10.** Valores de *P* associados aos coeficientes de correlação de Pearson para as variáveis analisadas de genótipos de videira inoculados (+N) e não-inoculados (-N) com *Pratylenchus brachyurus*, sob condições de casa de vegetação.

Variável	Inoculadas (+N)						Não-inoculadas (-N)				
	CHT <sup>1/</sup>	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT
CHT	-	0,0073	0,0234	0,0150	0,0035	0,0136	0,0043	0,0067	0,0234	0,0358	0,0483
MFPA	-	-	0,0014	0,0291	0,0324	0,0050	0,0500	<.0001	0,0162	0,0420	0,496
MFRA	-	-	-	0,3483	0,5333	0,0080	0,0085	0,0425	0,0443	0,9839	0,0462
CLF	-	-	-	-	<.0001	0,0360	0,0408	0,0287	0,0257	0,0500	0,0042
CRT	-	-	-	-	-	<.0001	0,0393	0,0424	0,0404	0,0117	0,0109
FR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CHT	-	-	-	-	-	-	-	0,0228	0,0100	0,0466	0,5804
MFPA	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0072	0,0104	0,0154
MFRA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9159	0,4237
CLF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<.0001
CRT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<sup>1/</sup>CHT: Carboidratos totais; MFPA: Massa fresca da parte aérea; MFRA: Massa fresca da raiz; CFL: Clorofila total; CRT: Carotenoides; FR: Fator de reprodução do nematoide.



**Anexo 11.** Valores de *P* associados aos coeficientes de correlação de Pearson para as variáveis analisadas em quatro genótipos de videira de videira inoculados (+N) e não-inoculados (-N) com *Pratylenchus brachyurus*, sob condições de casa de vegetação.

Variável	Paulsen 1103						Gravesac					
	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR
CHT	-	0,018	0,004	0,042	0,021	0,042	-	0,037	0,044	0,047	0,039	0,029
MFPA	-	-	0,018	0,043	0,031	0,045	-	-	0,016	0,033	0,004	0,048
MFRA	-	-	-	0,014	0,021	0,045	-	-	-	0,029	0,011	0,032
CLF	-	-	-	-	0,040	0,044	-	-	-	-	0,047	0,036
CRT	-	-	-	-	-	0,034	-	-	-	-	-	0,031
FR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Variável	Chardonnay						Salt Creek					
	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR	CHT	MFPA	MFRA	CLF	CRT	FR
CHT	-	0,048	0,023	0,039	0,022	0,019	-	0,030	0,015	0,022	0,013	0,007
MFPA	-	-	0,007	0,016	0,007	0,011	-	-	0,007	0,036	0,048	0,049
MFRA	-	-	-	0,026	0,046	0,032	-	-	-	0,041	0,004	0,050
CLF	-	-	-	-	0,018	0,019	-	-	-	-	0,005	0,033
CRT	-	-	-	-	-	0,042	-	-	-	-	-	0,051
FR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<sup>1</sup>**CHT:** Carboidratos totais; **MFPA:** Massa fresca da parte aérea; **MFRA:** Massa fresca da raiz; **CLF:** Clorofila total; **CRT:** Carotenoides; **FR:** Fator de reprodução do nematoide.