

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



TESE

**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.**

Lúcia Somavilla

Pelotas, Agosto de 2011

LÚCIA SOMAVILLA

**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.**

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

Orientador: Dr. Cesar Bauer Gomes

Co-orientadoras: Dra. Regina M. D. Gomes Carneiro

Dra. Andréa Bittencourt Moura

Pelotas, 2011

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

S6931 Somavilla, Lúcia

Levantamento, caracterização do nematóide 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. / Lúcia Somavilla ; orientador Cesar Bauer Gomes ; co-orientadores Regina M.D. Gomes Carneiro e Andréa Bittencourt Moura - Pelotas, 2010.-81f. : il.- Tese (Doutorado) –Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2011.

1. *Vitis* sp. 2. *Meloidogyne* spp. 3. Ocorrência 4. Reação de hipersensibilidade I. Gomes, Cesar Bauer Gomes (orientador) II.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Cesar Bauer Gomes
(Embrapa Clima Temperado)
(Orientador/Presidente da Banca examinadora)

Prof^a. Dra. Danielle Ribeiro de Barros
(Departamento de Fitossanidade / FAEM / UFPEL)

Prof^a. Dra. Candida Renata Jacobsen de Farias
(Departamento de Fitossanidade / FAEM / UFPEL)

Dra. Gláucia de Figueiredo Nachtigal
(Sanidade Vegetal e Controle Biológico / Embrapa Clima Temperado)

Dr. Luís Eduardo Corrêa Antunes
(Fitotecnia/Fruticultura / Embrapa Clima Temperado)

Aos meus pais Aquilino e Cecília
Ao Leandro, por tantos momentos de cumplicidade

Dedico

Agradecimentos

À Deus, pela vida, saúde e oportunidades concedidas durante minha vida;

À Universidade Federal de Pelotas e ao Departamento de Fitossanidade pela oportunidade de realização do curso;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro, que me permitiu estudar e me aperfeiçoar com maior tranquilidade;

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Clima Temperado, pelo espaço físico e apoio financeiro concedido para o desenvolvimento da pesquisa;

Ao pesquisador e professor Doutor Cesar Bauer Gomes pela disposição em receber-me e orientar-me, por me proporcionar o ingresso no universo da pesquisa, pelos conselhos e valiosos ensinamentos em nematologia;

Às minhas co-orientadoras Dra. Regina Carneiro (Embrapa - Cenargen), pela colaboração nas correções e disponibilização de materiais de pesquisa e a Dra. Andréa Bittencourt Moura pela colaboração no trabalho;

A todos os demais professores, que ao longo da vida acadêmica, contribuíram para meu crescimento profissional;

Aos funcionários e amigos da Embrapa Clima Temperado em especial os funcionários do Laboratório de Fitopatologia: Gelson Krolow, Daniel Lopes de Lima, Fernando Tavares e Claudiomar Amaral, e aos estagiários Cristiane Stocker, Adroaldo Gabana, Chaiane Signori, Aline Tietz Ferrari, pela amizade, carinho e ajuda sempre inegável durante a execução do trabalho;

Aos amigos e colegas, Israel, Josiane, Victor, Jaqueline, Caroline, Bianca, Monalize, Veridiana, Elisandra, Michele, Ismail e Clarice pelos momentos de estudo, amizade, carinho, descontração e torcida durante essa etapa de estudo;

A todos os amigos, que conquistei durante o período de doutorado, e que contribuíram de alguma forma para realização desse sonho;

Ao Leandro De Conto, pela paciência, companheirismo, pela compreensão e principalmente por ter acreditado que eu seria capaz;

À minha família, por tudo que me representam, meu muito obrigada.

Resumo

SOMAVILLA, Lúcia. **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. 81f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

Em levantamento do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) realizado em pomares de videira (*Vitis* spp.) dos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, foram obtidas 51 populações de *Meloidogyne* spp., as quais foram caracterizadas bioquimicamente através da isoenzima esterase (Est). Posteriormente, avaliou-se a reação de quatro porta-enxertos de videira de clima tropical, sete de clima temperado e duas cultivares de copa às espécies *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. enterolobii*, em casa de vegetação, avaliando-se a resistência com base no fator de reprodução de cada espécie de nematoide nos diferentes genótipos. Além disso, avaliou-se o efeito da temperatura sobre a eclosão *in vitro* de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. ethiopica*. Foi estudado também o mecanismo de resistência de um porta-enxerto resistente ('1103 Paulsen') e outro suscetível ('106-8 Ripária do Traviú') a *M. ethiopica* através de observações histopatológicas de raízes provenientes de plantas inoculadas com esse nematóide. De uma forma geral, detectou-se a presença do nematoide das galhas em 54,76% das videiras coletadas, detectando-se cinco fenótipos esterásticos (Est). Nas amostras provenientes do Rio Grande do Sul foram detectadas 46 populações., onde 34 foram identificadas como *M. javanica*, Est J3 (Rm: 1,00, 1,23, 1,40) e Est J2 (Rm: 1,00, 1,23), correspondendo a 66,66% e 3,92% das amostras, respectivamente. Ainda foram encontradas oito populações de *M. arenaria* Est. A2 (Rm: 1,20, 1,29), cinco populações de *M. incognita*

Est. I2 (Rm: 1,05, 1,10), e duas populações com Est A3 (Rm: 1,14, 1,20, 1,29), típico de *M. morocciensis*, as quais corresponderam a 15,69%, 9,8% e 3,92% das amostras. Porém, nas amostras coletadas em Santa Catarina, foi observada apenas a ocorrência de *M. javanica* (Est. J3). Entre os porta-enxertos tropicais, 'IAC 313-Tropical' e 'IAC 572-Jales' foram resistente a todas espécies de *Meloidogyne* testadas. 'IAC 766-Campinas' foi resistente a *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. enterolobii* e suscetível a *M. incognita*; porém '106-8 Traviú' foi suscetível às quatro espécies de *Meloidogyne* testadas. Já os porta-enxertos de clima temperado 'SO4', 'K5BB Kober', 'Salt Creek', e 'Harmonny' apresentaram reação de resistência à todas espécies testadas; '420 A' e 'Rupestris Du lot' foram suscetíveis a *M. incognita* e *M. arenaria* e resistentes a *M. javanica*, sendo o último, também resistente a *M. enterolobii*. Apesar do porta-enxerto '1103 Paulsen' ter se comportado como suscetível a *M. arenaria*, apresentou resistência às demais espécies testadas. As cultivares de copa 'Niagara Rosada' e 'Chardonnay' comportaram-se como suscetíveis a todas espécies de *Meloidogyne* avaliadas. Ao estudar a influência da temperatura na eclosão dos J2 de *M. ethiopica*, observou-se que a 25°C e 30°C ocorreu maior percentagem. Observações histológicas de radículas do porta-enxerto suscetível '106-8 Traviú' inoculado com *M. ethiopica* e coradas com fucsina ácida, mostraram que o nematoide conseguiu, penetrar, desenvolver-se, completando seu ciclo de vida aos 27 dias após a inoculação (DAI) a 26°C. Radículas deste mesmo porta-enxertos coradas com azul de toluidina evidenciaram sítios de alimentação do nematoide contendo células gigantes com denso citoplasma a partir dos 10 DAI. Observações histológicas realizadas no porta-enxerto resistente, demonstraram que o parasitismo pode ser bloqueado após a penetração. Analisando-se os corte em fluorescência e microscopia de luz, verificou-se que as células das raízes, nas proximidades do nematoide, exibiram reação de hipersensibilidade com acúmulo de compostos fenólicos e presença de células de aspecto necrótico, limitando o desenvolvimento dos J2 de *M. ethiopica* e a formação de células gigantes no porta-enxerto de videira resistente.

Palavras-chave: *Vitis* sp., *Meloidogyne* spp., ocorrência, reação de hipersensibilidade

Abstract

SOMAVILLA, Lúcia. **Survey, characterization of root-knot nematode in grape in Rio Grande do Sul and Santa Catarina states and resistance study of rootstocks to *Meloidogyne* spp.** 2011. 81f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

Fifty-one populations of *Meloidogyne* spp. obtained in a root-knot nematode survey in grape (*Vitis* spp.) orchards in Rio Grande do Sul and Santa Catarina states, were characterized biochemically by esterase phenotype (Est). In order to evaluate the reaction of resistance of four tropical grape rootstocks, seven temperate rootstocks and two top cultivars to *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* and *M. enterolobii*, an assay was carried out at greenhouse conditions. The resistance levels were characterized by the reproduction factor (RF) of each tested nematode species. The effect of the temperature in the hatching of *M. ethiopica* second-stage juveniles (J2) was investigated in a *in vitro* bioassay; An histopathological study in roots of grape rootstock resistant ('1103 Paulsen') and susceptible ('106-8 Ripária do Traviú') to *M. ethiopica* were also carried out where the resistance mechanisms were examined microscopically. Fifty-five percent of grape samples presented the root-knot nematode and five *Meloidogyne* esterase phenotypes were characterized. The species. *M. javanica*, was the most frequent in grape orchards. In Rio Grande do Sul state were detected 34 populations of *M. javanica* Est J3 (Rm: 1.00, 1.23, 1.40) and Est. J2 (Rm: 1.00, 1.24), corresponding to 66.66% and 3.92% of the samples analyzed, respectively. Also, eight populations of *M. arenaria* Est A2 (Rm: 1.20, 1.29), five populations of *M. incognita* Est I2 (Rm: 1.05, 1.10), and two populations presenting the phenotype Est A3 (Rm: 1.14, 1.20, 1.29) of *M. morocciensis*, were detected in 15.69%, 9.8% and 3.92% of samples, respectively. However, in the samples collected in

Santa Catarina, *M. javanica* (Est. J3) was the only detected species. Among the tropical rootstocks evaluated to root-knot nematode reproduction, IAC 313 - Tropical ' and' IAC 572-Jales' were resistant to all *Meloidogyne* species; IAC 766-Campinas' was resistant to *M. arenaria*, *M. javanica* and *M. enterolobii*, besides to behaved as susceptible to *M. incognita*. However, 'Traviú 106-8' was susceptible to four *Meloidogyne* species tested, the temperate rootstocks 'SO4', 'Kober K5BB', 'Salt Creek', and 'Harmonny' showed resistance to all the tested species, but '420 'and' Rupestris du Lot ' were susceptible to *M. incognita* and *M. arenaria*, and resistant to *M. javanica*. 'Rupestris du Lot' also showed resistance to *M. enterolobii*. The rootstock '1103 Paulsen presented resistance to all *Meloidogyne* species except to *M. arenaria*. 'Niagara Rosada' and Chardonnay' were the cultivars most susceptible to all evaluated *Meloidogyne* species. Considering the effect of temperature in the *M. ethiopica* J2 hatching, at 25°C and 30°C there were the most favorable temperatures. Histological observations in root sections stained with acid fuchsine, in the susceptible rootstock inoculated with *M. ethiopica*, showed the nematode could to penetrate, develop and complete its life cycle with 27 days of inoculation. Root sections stained with toluidine blue showed feeding sites containing giant cells with dense cytoplasm at 10 days after inoculation (DAI). Histological observations made in the resistant rootstock (1103 Paulsen) showed that the parasitism may be blocked after the J2 penetration. Observations of root fragments in fluorescence and in light microscopy showed that cells close to the nematodes exhibited hypersensitivity reaction with accumulation of phenolic compounds and the presence of necrotic cells that have limited the development of J2 and the formation of giant cells in the resistant grape rootstock .

Key Word: *Vitis* sp., *Meloidogyne* spp., occurrence, reaction

Lista de Figuras

Capítulo I

- Figura 1: Localização e distribuição de espécies de *Meloidogyne* por município em pomares de videira amostrados nos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. 1-Pelotas, 2-Pinheiro Machado, 3-Candiota, 4-Ulha Negra, 5-Bagé, 6-Dom Pedrito, 7-Santana do Livramento, 8-Quaraí, 9-Uruguaiana, 10-Pinhal Grande, 11-Antônio Prado, 12-Campestre da Serra, 13-Caxias do Sul, 14-Farroupilha, 15-Bento Gonçalves, 16-Frederico Westphalen, 17-Planalto, 18-Alpestre, 19-Tangará, 20-Caçador, 21-Pinheiro Preto, 22-Videira..... 26
- Figura 2: Fenótipos de esterase (Est.) detectados em 51 populações de *Meloidogyne* spp. coletadas em pomares de videira nos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina 29
- Figura 3: Padrões perineais das espécies de *Meloidogyne* encontradas nos pomares de videira dos estados de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul. A: *Meloidogyne javanica* Est. J3; B: *M. javanica* Est. J2; C: *M. arenaria* Est. A2; D: *M. incognita* Est. I2 e E: *M. morocciensis* Est. A3..... 34
- ### Capítulo III
- Figura 1: Percentagem de eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne ethiopica* submetidos a diferentes temperaturas 56
- Figura 2: Secções longitudinais de raízes do porta-enxerto suscetível '106 Ripária do Traviú', inoculadas com *Meloidogyne ethiopica*. A: Secção corada com azul de toluidina mostrando células gigantes bem formadas aos 15DAI, n = nematoide, cg = célula gigante, nu = nucléolo; B: radícula corada com fucsina ácida, mostrando J3/J4 aos 15DAI; C, e D: secções coradas com azul de toluidina, mostrando fêmeas com ovário formado aos 27DAI; E: J2, J3/J4 penetrando pelo ápice da raiz e se desenvolvendo no cilindro central aos 15DAI; F: radícula corada com fucsina ácida exibindo galha e fêmea adulta (n) com massa de ovos (mo) externa a raiz..... 58
- Figura 3: Secções longitudinais de raízes do porta-enxerto de videira

	resistente 'Paulsen 1103', inoculadas com <i>Meloidogyne ethiopica</i> . A: J2 penetrando na raiz aos 6DAI; B: J2 presente na raiz aos 15DAI; C-D: J2 no interior da raiz aos 31 e 35DAI	60
Figura 4:	Secções longitudinais de raízes do porta-enxerto de videira resistente 'Paulsen 1103', inoculadas com <i>Meloidogyne ethiopica</i> . B, D, F: secções coradas com azul de toluidina. A, C, E: secções não coradas visualizadas ao UV. RH = reação de hipersensibilidade, n = nematoide, fa = fêmea adulta, cg = célula gigante.....	61

Lista de Tabelas

Capítulo I

Tabela 1:	Fenótipos isoenzimáticos de esterase (Est) e suas respectivas percentagens de ocorrência, observadas em 51 populações de <i>Meloidogyne</i> spp. provenientes de pomares de videira do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. Pelotas - RS.....	27
-----------	---	----

Capítulo II

Tabela 1:	Reação de genótipos de videira a <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>M. arenaria</i> . Pelotas-RS.....	41
Tabela 2:	Reação de genótipos de videira a <i>Meloidogyne javanica</i> e <i>M. enterolobii</i> . Pelotas-RS.....	42

Capítulo III

Tabela 1:	Percentagem de eclosão de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne ethiopica</i> submetidos a diferentes temperaturas aos 16 dias de incubação. Pelotas-RS.....	56
-----------	---	----

Sumário

Resumo	6
Abstract	8
Lista de Figuras	10
Lista de Tabelas	11
Sumário	12
Introdução	15
2 CAPÍTULO I – Levantamento e caracterização do nematoide das galhas (<i>Meloidogyne spp.</i>) em videira nos Estados do Rio Grande do Sul e de santa Catarina	20
2.1 Introdução	20
2.2 Material e Método	23
2.3 Resultado e Discussão	25
2.4 Conclusões	35
3 CAPÍTULO II – Reação de porta-enxertos de videira a <i>Meloidogyne spp</i>	36
3.1 Introdução	36
3.2 Material e Método	39
3.3 Resultado e Discussão	40
3.4 Conclusões	46
4 CAPÍTULO III – caracterização histopatológica de raízes de porta-enxertos de videira suscetíveis e resistente parasitadas por <i>Meloidogyne ethiopica</i>	47
4.1 Introdução	47
4.2 Material e Método	52
4.3 Resultado e Discussão	55
4.4 Conclusões	65

Conclusões Gerais	66
Referências	67
ANEXO 1.	79

INTRODUÇÃO

A videira (*Vitis* spp.) é uma planta perene da família Vitaceae e é cultivada em quase todas as partes do mundo, exceto em alguns locais que não oferecem um mínimo de condições climáticas satisfatórias para seu desenvolvimento (POMMER, 2003). A produção de uvas no Brasil está dividida em dois grupos: uvas finas ou européias (*Vitis vinifera*), e uvas comuns rústicas ou americanas (*V. labrusca* ou híbridas). Estes grupos apresentam características diferenciadas quanto à produção, resistência a pragas e produtos que originam (CAMARGO; NACHTIGAL, 2007).

A produção de uva no Brasil concentra-se nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste, constituindo em atividade consolidada e com importância socioeconômica, nos estados do Rio Grande do Sul, São Paulo, Santa Catarina, Paraná, Pernambuco, Bahia e Minas Gerais. Segundo Mello (2010), a vitivinicultura é uma atividade importante para a sustentabilidade da pequena propriedade rural no Brasil. Nos últimos anos tem se tornado importante também na geração de emprego, em grandes empreendimentos para produção de uvas de mesa e uvas para processamento. Em 2009, praticamente metade da uva produzida no país foi destinada ao processamento para elaboração de vinhos, suco de uva e derivados, sendo o restante destinado ao mercado de uva *in natura*. A videira é uma frutífera considerada de clima temperado, mas pode ser cultivada em todo o Brasil. O hábito perene da cultura a submete a diferentes formas de estresses no campo, as quais tornam mais severos os prejuízos causados por pragas ou patógenos como fitonematoides, principalmente quando esses organismos se encontram em altas populações (CAMPOS et al, 2003).

O primeiro relato de nematoides afetando videira foi descrito por Neal (1889) na Flórida (EUA), onde o autor registra o nematoide das galhas (*Meloidogyne* sp.) na cultura. Contudo, somente a partir de 1954, Raski associou o declínio das vinhas a várias espécies de fitonematoides, destacando-se: *Meloidogyne* spp., *Xiphinema* spp., *Pratylenchus* spp., *Tylenchulus semipenetrans*, *Criconemella* spp., *Paratylenchus* spp., *Paratrichodorus* spp. e *Trichodorus* spp. (LORDELLO; LORDELLO, 2003).

Em levantamentos realizados em diferentes regiões do Brasil, é registrada a ocorrência de vários gêneros e espécies de fitonematoides associados a rizosfera da videira. Além da presença predominante de *Meloidogyne* spp. e *Criconemoides* sp. (GOMES et al., 2009), gêneros como *Xiphinema* spp., *Pratylenchus* spp., *Helicotylenchus* sp., *Hemicyclofores* sp., *Tylenchus* sp., *T. semipenetrans*, *Mesocriconema* sp., *Trichodorus* sp., *Aphelenchus* sp., *Aphelenchoides* sp. e *Ditylenchus* sp. são também relatados (SPERANDIO, 1992; CURTI et al., 1998; MAXIMIANO et al., 1999; GOMES et al., 2001; NAVES et al., 2005; GOMES et al., 2009). Informações acumuladas nos EUA, nos últimos anos, estimam perdas causadas por nematóides em videira em torno de 20% na Califórnia e 10% na Flórida (LORDELLO; LORDELLO, 2003), porém, no Brasil, não há relatos de perdas na cultura associados a esses patógenos.

Os nematoides das galhas, gênero *Meloidogyne*, são considerados como o principal grupo de nematóides fitopatogênicos de importância econômica à videira. As espécies de *Meloidogyne* Goeldi, 1887 constituem uma pequena parte do Filo Nematoda, que compreende os parasitas do homem, dos animais e parasitas de plantas e espécies de vida livre no solo, em água doce e no mar (MAGGENTI, 1981). O gênero *Meloidogyne* sp. faz parte da classe Chromadorea, ordem Rhabditida, Subordem Tylenchina, Infraordem Tylenchomorpha, Superfamília Tylenchoidea, família Meloidogynidae e subfamília Meloidogyninae (DE LEY; BLAXTER, 2002; KARSSSEN; MOENS, 2006). Suas espécies estão amplamente distribuídas e atacam quase todas as plantas cultivadas (FERRAZ; MENDES, 1992). Videiras seriamente afetadas por *Meloidogyne* sp. apresentam sintomas na parte aérea como redução do vigor, folhas de tamanho reduzido e tonalidades diversas. Além disso, raízes de videira atacadas por esse patógeno exibem pequenos engrossamentos denominados de galhas. Também pode ser observado na região infectada, a destruição do córtex com a presença de áreas necróticas distribuídas irregularmente, principalmente nas radículas. Em caso de infecção severa, a

produtividade das plantas decresce a cada ciclo, devido à severidade da infecção provocada por este organismo fitopatogênico (LIMA et al, 2009).

Entre as espécies do nematóide das galhas que afetam a videira, *M. ethiopica* tem sido a mais frequentemente encontrada no Chile, onde tem causado sérios danos que consistem desde a redução do crescimento até a diminuição da produção e morte das plantas (CARNEIRO et al., 2007, ABALLAY et al., 2009). A primeira detecção do nematóide das galhas (referido como *Anguillula vialae*) parasitando videira, no Chile, foi feito por Lavergne (1901), sendo a descrição dos sintomas, muito semelhante àquela descrita por Carneiro et al, (2007) em áreas infectadas por *M. ethiopica* que vão desde o vale do Copiapó do norte de Santiago até Talca no Sul do Chile. Parece, portanto, que *M. ethiopica* está presente nesse país, há muitos anos (CARNEIRO et al., 2007). No Brasil, essa espécie foi relatada parasitando quivi (*Actinidia deliciosa* (Chevalier) Liang & Ferguson) no Rio Grande do Sul e no Paraná (Carneiro, R. G, comunicação Pessoal), soja (*Glycines max*) em São Paulo (CASTRO et al., 2003), yacon (*Polymida sonchifolia* Poep & End) e tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) no Distrito Federal (CARNEIRO et al., 2004), e em fumo (*Nicotiana tabacum* L.) no Rio Grande do Sul (GOMES et al., 2005). Por ainda não haver registro de ocorrência de *M. ethiopica* em videira, no Brasil, muito pouco se conhece sobre a sua distribuição e danos ocasionados pela espécie na cultura, nessas condições.

Uma outra espécie importante é *M. enterolobii* (sin. *M. mayaguensis*) é polífaga e de ocorrência frequente no Oeste do continente africano. No Brasil, foi assinalado pela primeira vez nos municípios de Petrolina (PE), Curaçá e Maniçoba (BA), causando danos severos em plantios comerciais de goiabeira (CARNEIRO et al., 2001). Essa espécie quebra a resistência do tomateiro (*Lycopersicon sculentum* Mill) 'Rossol' portador do gene Mi, da batata doce 'CDH' e da soja 'Forrest' resistentes a *M. incognita* e *M. arenaria*. Esse nematoide tem alta taxa de reprodução em diferentes espécies vegetais, demandando medidas quarentenárias que impeçam sua disseminação no País (CARNEIRO et al., 2001). Devido as proximidades de áreas de goiabeira e videira no Nordeste do Brasil, é de fundamental importância que medidas de controle sejam tomadas para evitar prejuízos econômicos na viticultura brasileira. Porém pouco se sabe sobre o nível de resistência de porta-enxertos de videira a *M. enterolobii*.

No Brasil mais de uma dezena de porta-enxertos são utilizados na viticultura, sendo indicados, para a produção de uvas americanas e híbridas para

processamento, os que induzem maior vigor à copa e, em geral, maior produtividade. Os principais porta-enxertos são indicados de acordo com a regiões vitícolas do Brasil, sendo eles de clima temperado, para as regiões Sul e Sudeste ou tropical, para as condições da Região do Vale do São Francisco onde a videira é cultivada. Todavia, na escolha do porta-enxerto, também devem ser considerados fatores como a fertilidade do solo e a suscetibilidade do porta-enxerto a doenças e pragas ocorrentes na região ou no local de plantio do vinhedo. Em certos casos, a cultivar também pode ser determinante na escolha do porta-enxerto (NACHTIGAL; SCHNEIDER, 2007).

Entre os métodos de controle de nematóides em videira, a resistência genética, com o uso de porta-enxertos resistentes ou tolerantes, é a medida mais eficiente e preconizada. Entretanto, deve se considerar que a resistência de um porta-enxerto de *Vitis* sp. é específica, podendo ocorrer multiplicação de outros fitonematoides. Além disso, o porta-enxerto também deve ser resistente a filoxera (*Daktulosphaira vitifoliae*), praga danosa a videira e amplamente distribuída em algumas importantes regiões produtoras do Brasil (POMMER, 2003).

Embora existam porta-enxertos de videira com resistência conhecida às principais espécies do nematoide das galhas que ocorrem no Brasil, muitos desses ainda não foram testados para todas espécies de maior ocorrência. Além disso, considerando-se que o estudo da relação *M. ethiopica* x videira é um patossistema relativamente recente (SOMAVILLA, 2008), torna-se importante, o estudo dos mecanismos de resistência que atuam para controlar a infecção e o avanço do parasitismo. Dessa forma, a compreensão da relação hospedeiro-parasita é necessária para indicação, com precisão, de um material resistente de videira a uma dada espécie do nematoide das galhas.

Considerando a importância da videira para a região Sul do Brasil e a necessidade de estudos aprofundados sobre ocorrência, danos, manejo e biologia do nematoide das galhas na cultura, o presente trabalho está dividido em três capítulos:

No primeiro, objetivou-se realizar um levantamento nematológico do gênero *Meloidogyne* em pomares de videira nos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina a fim de investigar a sua ocorrência e a distribuição de espécies na cultura; no segundo capítulo, foi estudada a reação de porta-enxertos e de cultivares copa de videiras a diferentes espécies de *Meloidogyne* e, no terceiro, foi realizado um

estudo histopatológico comparativo entre um porta-enxerto de videira resistente e outro suscetível a *M. ethiopica*.

2 CAPÍTULO I - Levantamento e caracterização do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) em videira nos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina

2.1 Introdução

Diferentes espécies de nematoides fitoparasitas afetam o desenvolvimento de diversas fruteiras de clima temperado. Entre essas fruteiras, a videira é uma das culturas mais afetadas no mundo inteiro, onde são estimadas perdas médias anuais que podem chegar até 20% na redução da produção (RASKI; KRUSBERG, 1984), sendo esses patógenos um fator limitante à produtividade (NAVES, 2005).

Mundialmente, o nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.), os nematoide das lesões (*Pratylenchus* spp.), o nematoide-adaga (*Xiphinema* spp.) e o nematoide dos citros (*Tylenchulus semipenetrans* Cobb, 1914) são considerados os mais prejudiciais e disseminados em todas as regiões vitícolas (KANYAGIA, 1988; NAVES, 2005; ANWAR et al., 1999; RASKI, 1994). No Brasil, é registrada a ocorrência de vários gêneros e espécies de fitonematoides associados à rizosfera da videira (MAXIMIANO et al. 1999; GOMES et al., 2005; NAVES et al., 2005; RASKI, 1994). Em levantamento realizado em vinhedos da Serra Gaúcha, no início deste século, observou-se maior frequência dos nematoides *Criconemoide* sp., *Meloidogyne* spp. e *Tylenchus* sp., seguidos por populações de *Hemiciclyophora* sp., *Aphelenchus* sp., *Helicotylenchus* sp., *Pratylenchus* sp., *Tylenchulus semipenetrans*, *Trichodorus* sp., *Aphelenchoides* sp., *Ditylenchus* sp. e *Xiphinema* sp. (GOMES et al. 2009).

Gomes et al. (2005), analisando a ocorrência do nematóide das galhas em amostras de videira de diferentes locais do Brasil, detectaram a ocorrência de

mudas infectadas com *M. incognita* e *M. javanica*, provenientes de Santa Catarina e Paraná, assim como também, a detecção a campo de videiras infectadas com *M. incognita*, em Pernambuco, onde, os autores associaram altos níveis de infestação do nematoide no solo com raízes pesadamente atacadas pelo patógeno. Entre os diferentes gêneros de fitonematoides relatados em videira, *Meloidogyne* é considerado o mais importante causador de danos (ALMEIDA, 1992). O nematoide das galhas se caracteriza por induzir a formação de galhas (engrossamentos) nas raízes, restringindo a absorção de água, nutrientes e o retardo no crescimento da videira, além de também poder predispor a planta ao ataque de fungos de solo. *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood, *M. arenaria* (Neal) Chitwood, *M. hapla* Chitwood e, mais recentemente, *M. ethiopica*, são relatadas como as espécies mais importantes para a videira, sendo essas amplamente distribuídas na maior parte das regiões onde a videira é cultivada (RASKI, 1994, ANAWAR et al., 2000; MOREIRA; LIMA, 2002, LORDELLO; LORDELLO, 2003, CARNEIRO et al, 2003).

De acordo com Téliz et al. (2007), *M. arenaria*, *M. incognita* e *M. javanica* causam danos graves em raízes de videira cultivadas em solos arenosos sob temperaturas amenas, as quais predominam na maioria das áreas de cultivo da Califórnia-EUA, Bacia do Mediterrâneo e no Sul da África. *M. hapla* predomina nas áreas mais frias do sul da Austrália e na Hungria, *M. ethiopica* parasita videiras do Chile e *M. hispanica* e *M. nataliei* infectam videiras na África do Sul e Michigan, nos EUA, respectivamente. Apesar de existirem relatos de *Meloidogyne* spp. associados a videira no sul do Brasil, os registros são localizados principalmente na serra gaúcha (Gomes et al, 2009; Naves et al., 2005), havendo poucas informações disponíveis para as demais regiões.

A incidência do gênero *Meloidogyne* nos vinhedos chilenos pode ser vista nos parreirais da região metropolitana de Santiago, onde se observa que, a cada 5 ha de videira, 1 ha está contaminada com o nematoide (ABALLAY et al.,1997). Na Califórnia, EUA, com as informações acumuladas nos últimos 30 anos, estimam-se perdas, devido a *Meloidogyne*, em torno de 20% (BROWN et al.,1993); já na Flórida, essas perdas são avaliadas em 10% (LORDELLO; LORDELLO, 2003).

A pouco menos de uma década, CARNEIRO et al. (2003) relataram a ocorrência de *M. ethiopica* em videira no Chile e em quivi (*Actinidia deliciosa* (Chevalier) Liang & Ferguson) no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Logo após, esta mesma espécie foi descrita em outros hospedeiros como soja (*Glycines max*), em São Paulo

(CASTRO et al., 2003), yacon (*Polymida sonchifolia* Poep & End) e tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), no Distrito Federal (CARNEIRO et al., 2004), em fumo (*Nicotiana tabacum* L.) e em guanxuma (*Sida rhombifolia*), no Rio Grande do Sul (GOMES et al., 2005). Apesar de saber pouco sobre a distribuição e patogenicidade desse nematóide, danos significativos dessa espécie parecem ser mais expressivo em *Vitis* spp. De acordo com Magunacelaya (2005) a alta agressividade de *M. ethiopica* em videira, no Chile, tem resultado na morte das plantas ou na baixa produtividade dos pomares afetados.

Para recomendação de um porta-enxerto resistente ao nematoide das galhas, o primeiro passo é a identificação da espécie. A identificação clássica das espécies do gênero *Meloidogyne* é realizada pela observação de caracteres morfológicos e morfométricos com o auxílio do microscópio óptico e do microscópico eletrônico de varredura (EISENBACK; HIRSCHMANN, 1979, 1980; EISENBACK et al. 1980). A configuração da região perineal e o teste com hospedeiros diferenciadores (HARTMANN; SASSER, 1985) ainda são métodos muito utilizados na prática. Porém essas técnicas são morosas, subjetivas e frequentemente pouco precisas para serem utilizadas rotineiramente (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001). A aplicação de técnicas bioquímicas, sobretudo com padrões eletroforéticos com o uso de proteínas, além de ser um método mais rápido, é a ferramenta que permite maior precisão na identificação das espécies de *Meloidogyne* (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990; CARNEIRO et al. 1996).

Considerando-se que o Brasil apresenta uma área plantada de aproximadamente 90 mil ha de videira (IBGE, 2010) distribuída principalmente na região do Sul, e, que a produção desta cultura tem contribuído com volume crescente de divisas nas exportações, a presença de *M. ethiopica* no país, associada ao seu potencial de danos na videira, pode representar sérios riscos à viticultura nacional. Dessa forma, teve-se por objetivo, nesse estudo, realizar um levantamento nematológico em pomares de videira do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina a fim de caracterizar bioquímica e morfológicamente as espécies de *Meloidogyne* associadas a essa cultura, bem como investigar a possível existência de *M. ethiopica* em pomares de videira da região Sul do Brasil.

2.2 Material e Método

2.2.1 Levantamento do nematoide das galhas em pomares de videira dos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina

Entre os anos de 2008 e 2010, nas estações da primavera e verão, 84 amostras de raízes de videira foram coletadas em 56 pomares comerciais com mais de 5 anos de idade, conduzidos em espaldeira ou latata, em 39 municípios dos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina e avaliadas quanto a presença, caracterização e distribuição de espécies do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.).

A coleta das amostras foi realizada com auxílio da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Rio Grande do Sul (EMATER-RS) e da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI-SC), sendo os locais amostrados, georreferenciados por GPS (Global Position System). O ponto mais setentrional foi em Videira-SC (51°11'55.1"W, 26°57'24.3"S) e o extremo meridional foi em Ulha Negra-RS (53°51'37,7"W, 31°20'07,3"S). De leste a oeste, a amplitude foi de 053°04'47,8"W, 27°15'35,9"S leste (Caxias-RS) a 57°06'05,3"W, 29°45'68,6"S oeste (Uruguaiana-RS) (Figura 1 e Anexo 1).

As amostras foram coletadas percorrendo-se o terreno de cada pomar em zigue-zague, determinando-se um número mínimo de 10 pontos de coleta por hectare, formando ao final em cada pomar uma amostra composta. As coletas foram realizadas na projeção da copa das plantas a uma profundidade de 0 a 25 cm da superfície. Amostras de áreas com plantas exibindo sintomas de amarelecimento e/ou raquitismo, em reboleiras, foram coletadas separadamente (TIHOHOD, 2000). Logo após, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos identificados quanto à origem do material (cultivar ou porta-enxerto) e levadas ao Laboratório de Nematologia da Embrapa Clima Temperado - Pelotas, RS, para avaliação da presença e caracterização da(s) espécie(s) de *Meloidogyne*.

Para identificação das espécies do nematoide das galhas, fêmeas foram extraídas das raízes de videira e caracterizadas bioquimicamente pela técnica de eletroforese, utilizando-se a enzima esterase. Em seguida, as populações puras de *Meloidogyne* spp. foram inoculadas em plantas de tomateiro cv. Santa Cruz e mantidas

em vasos com solo autoclavado (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001), em casa de vegetação a $25 \pm 5^\circ\text{C}$, para posteriores estudos bioquímicos e morfológicos.

2.2.2 Caracterização bioquímica

Para caracterização bioquímica do nematóide das galhas, fêmeas adultas e com aspecto branco leitoso foram retiradas das raízes de videira de cada amostra com o auxílio de um estilete de ponta fina, sob microscópio estereoscópico. Cada fêmea retirada, foi depositada individualmente em um tubo capilar contendo 2-3 μL de solução tampão de extração da enzima esterase (tampão sacarose/Triton X-100: 20g sacarose ou glicerol, 1g triton X-100, 100mL água destilada) e mantidos no gelo (DALMASSO; BERGÉ, 1978). As massas de ovos correspondentes a cada fêmea retirada, foram coletadas e mantidas individualmente, em tubo eppendorf contendo 0,1mL de solução salina a 1% (1g NaCl, 100mL água destilada) para purificação das espécies de *Meloidogyne* detectadas em mistura. Após a coleta das fêmeas e a preparação de um gel de poliacrilamida a 6% (11 x 18 cm, 1mm de espessura), as mesmas foram maceradas individualmente e a respectiva suspensão foi adsorvida em papel de filtro qualitativo (Whatman 3mm). Cada pedaço de papel adsorvido com a respectiva amostra foi colocado separadamente no gel, e em cada um deles, foi depositada uma gota de azul de bromofenol (0,01%). Foram realizados dois géis por amostra, a fim de se obter, no mínimo, trinta fêmeas amostradas. Como padrão, o extrato protéico de uma população pura de *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, foi aplicado em duas cavidades do mesmo gel para garantir a comparação dos fenótipos encontrados (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001).

Após a aplicação das amostras, o gel foi acomodado em uma cuba contendo tampão proposto por Scandalios (1969), ligada a uma fonte de 80 volts, mantida em balcão frigorífico a $4-8^\circ\text{C}$, sendo a corrida eletroforética efetuada no sistema horizontal, conforme técnica proposta por Smithies (1955) e modificada por Carneiro; Almeida (2001). Após o azul de bromofenol ter migrado 5 cm do ponto de aplicação no gel (2 horas), a fonte foi desligada e o gel submetido à revelação da enzima esterase (Est.), utilizando-se uma solução de 50 mL de tampão fosfato, 50mg de Fast Blue RR Salt e 1,5 mL de α -naftilacetato 1% (30 mg α -naftilacetato, 15 mL

acetona, 15 mL água destilada). A seguir, o material foi levado à incubação onde permaneceu em estufa a 37°C por 30 minutos, até que as bandas esterásticas (escuras) aparecessem em fundo claro. Passado esse período, o gel foi transferido para uma solução fixadora contendo 10% de ácido acético e 40% de solução de álcool metílico onde permaneceu por 30 minutos. Em seguida, o gel revelado e fixado, foi disposto entre duas folhas de papel celofane, e seco a temperatura ambiente.

A identificação dos fenótipos foi realizada através do cálculo da mobilidade relativa (R_m) de cada banda polimórfica em relação à primeira banda de *M. javanica* (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001). Os fenótipos enzimáticos encontrados 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, 1985, 1990). A ocorrência dos diferentes fenótipos observados foi expressa em percentagem por amostra.

2.2.3 Caracterização morfológica

As populações do nematoide das galhas foram também caracterizadas morfológicamente por meio da configuração da região perineal de fêmeas adultas cortadas e lavadas em ácido láctico a 45%, e logo após, foram montados em lâminas com glicerina para observações microscópicas (HARTMANN; SASSER, 1985). Foram observadas características como conformidade e tamanho de estrias, forma do arco dorsal, distância entre o ânus e a vulva, presença de pontuações na região perineal, etc. As características observadas foram comparadas com as características das espécies já descritas na literatura.

2.3 Resultados e Discussão

Entre as amostras coletadas no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, detectou-se a presença do nematoide das galhas em 57,35 e 40% das amostras,

respectivamente. No RS, o nematoide foi encontrado tanto em amostras de porta-enxertos (54,5%) como de pés francos de cultivares de videira (51,42%). Apesar de ter sido observada a mesma tendência na frequência de ocorrência do nematoide das galhas nas amostras em pés francos coletados, em SC, não foi possível detectar a presença do gênero *Meloidogyne* em raízes dos porta-enxertos '043' e '1103 Paulsen' (Anexo 1).

Foram obtidas 45 populações de *Meloidogyne* spp. provenientes do Rio Grande do Sul e seis de Santa Catarina (Tabela 1). Entre as populações estudadas, foram identificados cinco fenótipos esterásticos que corresponderam as espécies *M. javanica* Est. J3, *M. javanica* Est. J2, *M. arenaria* Est. A2, *M. incognita* Est. I2 e *M. morocciensis* Est. A3 (Figura 2), sendo a primeira, com o fenótipo J3, a espécie predominante.

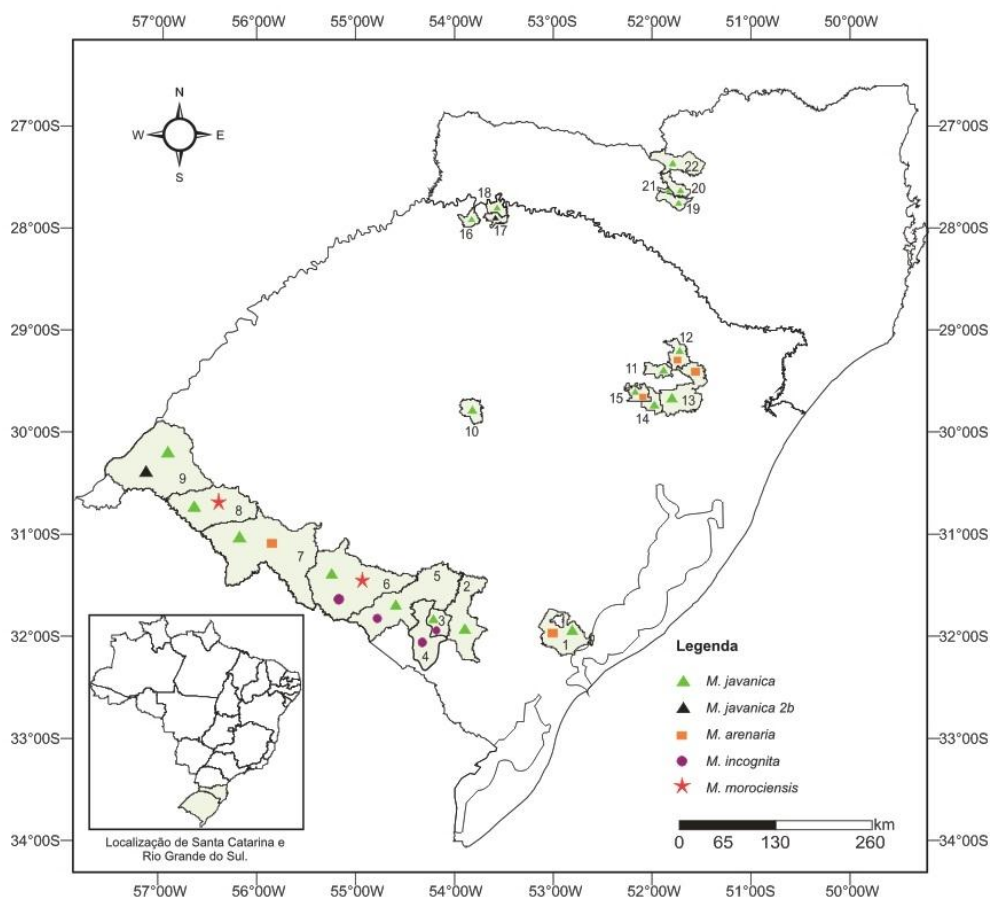


Figura 1: Localização e distribuição de espécies de *Meloidogyne* por município em pomares de videira amostrados nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. 1 - Pelotas, 2 - Pinheiro Machado, 3 - Candiota, 4 - Ulha Negra, 5 - Bagé, 6 - Dom Pedrito, 7 - Santana do Livramento, 8 - Quaraí, 9 - Uruguaiana, 10 - Pinhal Grande, 11 - Antônio Prado, 12 - Campestre da Serra, 13 - Caxias do Sul, 14 - Farroupilha, 15 - Bento Gonçalves, 16 - Frederico Westphalen, 17 - Planalto, 18 - Alpestre, 19 - Tangará, 20 - Caçador, 21 - Pinheiro Preto, 22 - Videira.

Tabela 1: Fenótipos isoenzimáticos de esterase (Est) e suas respectivas percentagens de ocorrência por amostra, observadas em 51 populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de pomares de videira do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina onde o nematóide das galhas foi detectado – Pelotas – RS.

Amostra	Procedência (municípios)	Porta-enxerto/cultivar	Espécie	Fenót. Est. ¹	Ocor. ² (%)
1	Pelotas 1-RS	C. Sauvignon*	<i>M. arenaria</i>	A2	100
2	Pelotas 3-RS	NI	<i>M. javanica</i>	J3	100
3	Pelotas 4-RS	Bordô*	<i>M. javanica</i>	J3	100
4	Pelotas 5-RS	Concord*	<i>M. javanica</i> <i>M. arenaria</i>	J3 A2	50 50
5	Pelotas 6-RS	Niágara Rosa*	<i>M. javanica</i>	J3	100
6	Uruguaiana 1-RS	SO4**	<i>M. javanica</i>	J3	100
7	Uruguaiana 2-RS	SO4**	<i>M. javanica</i>	J2	100
8	Uruguaiana 3-RS	1103 Paulsen**	<i>M. javanica</i>	J3	100
9	Quaraí 1-RS	1103 Paulsen**	<i>M. javanica</i>	J3	100
10	Quaraí 3-RS	SO4**	<i>M. morocciensis</i>	A3	100
11	S.Livramento 1.1-RS	SO4**	<i>M. javanica</i>	J3	100
12	S.Livramento 1.2-RS	SO4**	<i>M. javanica</i>	J3	100
13	S.Livramento 2.1-RS	1103 Paulsen**	<i>M. arenaria</i>	A2	100
14	S.Livramento 2.2-RS	SO4**	<i>M. arenaria</i>	A2	100
15	S.Livramento 3-RS	NI	<i>M. javanica</i> <i>M. arenaria</i>	J3 A2	90 10
16	D. Pedrito 1-RS	Cabernet*	<i>M. javanica</i> <i>M. morocciensis</i>	J3 A3	13,3 86,7
17	D. Pedrito 2-RS	SO4**	<i>M. javanica</i>	J3	100
18	D. Pedrito 3-RS	SO4**	<i>M. incognita</i> <i>M. javanica</i>	I2 J3	13,3 86,7
19	Bagé 2-RS	Malbec*	<i>M. incognita</i>	I2	100
20	Bagé 4-RS	1103 Paulsen**	<i>M. javanica</i>	J3	100
21	Hulha negra-RS	Paulsen**	<i>M. incognita</i>	I2	100
22	Candiota 2-RS	R99*8	<i>M. incognita</i> <i>M. javanica</i>	I2 J3	14,3 85,7
23	Candiota 3-RS	3309**	<i>M. incognita</i>	I2	100
24	B. Gonçalves 3-RS	Paulsen**	<i>M. javanica</i>	J3	100
25	B. Gonçalves 4-RS	Niágara Rosa*	<i>M. arenaria</i>	A2	100
26	Farroupilha 3-RS	Isabel*	<i>M. javanica</i>	J3	100
27	F. Westphalen-RS	Concord*	<i>M. javanica</i>	J3	100
28	Alpestre-RS	Paulsen**	<i>M. javanica</i>	J3	100
29	Planalto-RS	Paulsen**	<i>M. javanica</i>	J2	100
30	Pinhal Grande-RS	Isabel*	<i>M. javanica</i>	J3	100
31	Antonio Prado 1-RS	Isabel*	<i>M. javanica</i>	J3	100
32	Antonio Prado 2-RS	Paulsen**	<i>M. javanica</i>	J3	100
33	Antonio Prado 3-RS	Isabel*	<i>M. javanica</i>	J3	100
34	Camp. Serra 1-RS	Bordô*	<i>M. javanica</i>	J3	100
35	Camp. Serra 2-RS	Bordô*	<i>M. arenaria</i>	A2	100
36	Caxias do sul 1-RS	Paulsen**	<i>M. javanica</i>	J3	100
37	Caxias do Sul 2-RS	Bordô*	<i>M. javanica</i>	J3	100

38	Caxias do sul 3-RS	Niágara Rosa*	<i>M. javanica</i>	J3	7,0
			<i>M. arenaria</i>	A3	92,3
39	P. Machado 1.1-RS	K5 BB**	<i>M. javanica</i>	J3	100
40	Tangará 4 - SC	Seibel*	<i>M. javanica</i>	J3	100
41	Pinheiro Preto1 – SC	Niágara Branca*	<i>M. javanica</i>	J3	100
42	Pinheiro Preto 2– SC	Isabel*	<i>M. javanica</i>	J3	100
43	Videira 2 - SC	Isabel*	<i>M. javanica</i>	J3	100
44	Videira 3 - SC	Isabel*	<i>M. javanica</i>	J3	100
45	Caçador 4 -SC	Isabel*	<i>M. javanica</i>	J3	100

*Cultivar copa, ** Porta-enxerto; ¹Fenót. Est.=fenótipo; ²Ocor.= ocorrência na amostra.

Nas amostras provenientes do Rio Grande do Sul foram detectadas 34 populações de *M. javanica* com o fenótipo de esterase J3 (Rm: 1,00, 1,23, 1,40) e J2 (Rm: 1,00, 1,23), que corresponderam a 66,66% e 3,92% das amostras analisadas, respectivamente. Ainda foram encontradas oito populações de *M. arenaria* Est. A2 (Rm: 1,20, 1,29), cinco populações de *M. incognita* Est. I2 (Rm: 1,05, 1,10) e duas populações com o fenótipo de esterase A3 (Rm: 1,14, 1,20, 1,29), típico de *M. morocciensis*, as quais corresponderam a 15,69%, 9,8% e 3,92% das amostras onde foi detectada a presença do nematóide das galhas, respectivamente (Figura 2). Nas amostras coletadas em Santa Catarina foi verificada a ocorrência de *M. javanica* (Est. J3), em 100% das populações analisadas (Figura 2).

Considerando-se a porcentagem de ocorrência do nematoide das galhas presente nas amostras, verificou-se a predominância de *M. javanica* Est. J3 tanto no Estado do Rio Grande do Sul como em Santa Catarina, seguida de *M. arenaria* Est. A2 no Rio Grande do Sul. Recentemente, Gomes et al. (2009), relataram a ocorrência de *M. javanica* e *M. arenaria* em amostras de raízes de pés francos de videira das cultivares Niágara Rosada e Concord, provenientes da Serra Gaúcha, sendo *M. javanica* (Est. J3) a espécie predominante. Naves et al. (2005), estudando a nematofauna associada à videira nesta mesma região, além de relatarem as duas espécies acima referidas, detectaram a ocorrência de *M. incognita*, *M. hapla* e *Meloidogyne* sp..

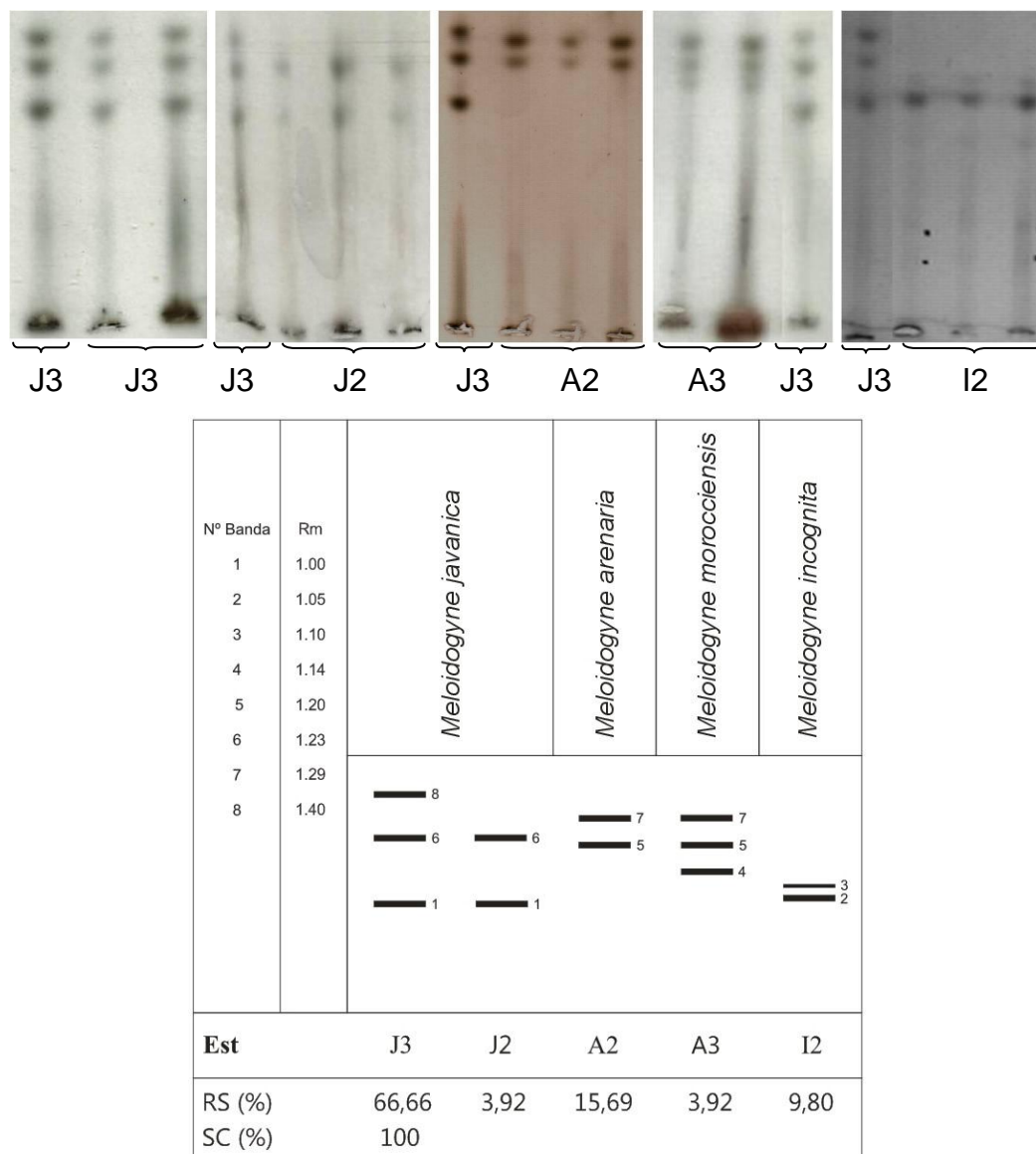


Figura 2: Fenótipos de esterase (Est.) detectados em 51 populações de *Meloidogyne* spp. coletadas em pomares de videira nos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina.

A infestação de pomares de videira com *M. javanica* também já foi relatada por Maximiniano et al. (1999) em Caldas-MG. O fenótipo de esterase J3, típico desta espécie, é frequentemente observado no Sul do Brasil em culturas como pessegueiro, amoreira, quivi, soja, batata, tomate, feijão, dentre outras frutíferas, hortaliças e culturas anuais (CARNEIRO et al., 1996; SOMAVILLA et al., 2011), muitas vezes em mistura com *M. arenaria*. Em levantamentos realizados em vinhedos australianos por Vanstone e Lantzke (2006), *M. javanica* e *M. arenaria* também foram as espécies mais frequentes, ocorrendo em 31% dos 71 pomares analisados. Segundo os mesmos autores, o nematoide das galhas é a mais séria praga das vinhas no

oeste da Austrália e a combinação de fatores como cultivo em solos arenosos, clima quente e o plantio de pés francos de videira em solos infestado com *Meloidogyne* sp., previamente cultivado com hortaliças ou frutas hospedeiras, são as principais causas do aumento do nível populacional desses patógenos.

Entre as populações de *M. javanica* encontradas, foi possível detectar o fenótipo de esterase J2 (Rm 1,00, 1,23) correspondendo as duas bandas de menor mobilidade, em duas amostras. Essas populações foram encontradas em regiões distintas do Rio Grande do Sul, sendo uma na fronteira Noroeste e a outra na fronteira Sudoeste do estado (Figura 1). Esse mesmo fenótipo foi relatado pela primeira vez na cultura do amendoim nos Estados Unidos (TOMASZEWSKI et al. 1994). No Brasil, o fenótipo 'J2' já foi detectado no Noroeste do estado do Paraná em tomate, feijão, milho, amora, arroz, mandioca, melão, cana de açúcar, *Mimosa scabrella* Benth (CARNEIRO et al., 1996; CARNEIRO et al., 1998), soja (CASTRO et al., 2003), banana (COFCEWICZ et al. 2004), quiabo (OLIVEIRA et al., 2007), figueira (GOMES et al., 2009) e batata (SILVA, 2009). No entanto, este é o primeiro registro da ocorrência de *M. javanica* Est. J2, em plantas de videira no sul do Brasil.

Alguns autores associam o fenótipo J2 a *M. javanica* em consenso, onde predomina a idéia de que o fenótipo atípico apresentando duas bandas pode pertencer a subpopulação da espécie ou são resultados de condições ambientais em que a espécie é submetida, como ao frio por exemplo, predominante no Rio Grande do Sul. Da mesma forma, fêmeas em má condição fisiológica podem resultar na ausência ou falta de resolução das bandas (TOMASZEWSKI et al., 1994; CARNEIRO et al., 1998).

A ocorrência de *M. morocciensis* em videira, com base nos fenotipos A3 (Tabela 1, Figura 2), foi verificada em apenas duas amostras, sendo uma delas em mistura com *M. javanica*. Segundo Rammah e Hirschmann (1990), esta espécie foi descrita a partir de amostras de porta-enxerto de pessegueiro parasitadas no Marrocos. *M. morocciensis* exibe uma combinação de caracteres morfológicos semelhantes a *M. arenaria*, *M. incognita* e *M. javanica*; no entanto, seu fenótipo de esterase é semelhante ao fenótipo de *M. arenaria* (A2). No Brasil esse mesmo fenótipo foi detectado recentemente, em pessegueiro, também no Rio Grande do Sul (Gomes et al., 2009). Anteriormente, outros autores também detectaram o fenótipo A3 em diferentes locais do Brasil parasitando soja (CASTRO et al., 2003), bananeira (COFCEWICZ et al., 2004) e em plantas de tomate, soja, kiwi e alface (CARNEIRO

et al., 1996). Carneiro et al. (2008), estudando a diversidade de populações de *M. arenaria* por meio de caracteres morfológicos, citológicos e moleculares, verificaram que duas populações previamente identificadas como *M. arenaria* e com o fenótipo A3, se agruparam com 96% e 75% de bootstrap a *M. morocciensis* e foram morfológicamente idênticas a essa espécie.

M. incognita Est I2 (Rm 1,05, 1,10) foi identificado em cinco amostras provenientes do Rio Grande do Sul. No entanto, em três pomares essa espécie foi detectada em misturas com *M. javanica* (Est. J3). No Brasil, *M. incognita* já foi relatado em pomares de videira de Minas Gerais (MAXIMINIANO et al., 1999), Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e Pernambuco (GOMES et al., 2005; Naves et al., 2005). Em Petrolina-Pe, os autores relacionaram a ocorrência de *M. incognita* em videiras mal desenvolvidas, com menor folhagem e com grande número de galhas nas raízes associadas às altas populações desse patógeno no solo. Em levantamentos conduzidos em vinhedos do Kenya, Kanyagia (1988) verificou que *M. javanica*, seguido de *M. incognita*, foram as espécies predominantes. No Sul da Espanha, *M. incognita* é a espécie de *Meloidogyne* que causa os maiores danos em videira (TELIS et al. 2007).

Populações mistas de *Meloidogyne* foram detectadas em 15,3% das amostras coletadas no Rio Grande do Sul, sendo que *M. javanica* esteve presente em todas elas, tanto naquelas provenientes de pés francos de cultivares copa como de porta-enxertos. Em levantamento realizado no Chile, Carneiro et al. (2007) também observaram a ocorrência de populações mistas de *Meloidogyne* na cultura da videira e do quivi. Em levantamentos conduzidos em outras espécies perenes a ocorrência de populações mistas de *Meloidogyne* foi relatada em bananeira (COFCEWICZ et al., 2004, 2005), café (CARNEIRO et al., 2005b), quivi (SOMAVILLA et al., 2011), figueira (MEDINA et al., 2006), dentre outras plantas hospedeiras; porém, não há informações referentes a danos em videira. Em algumas amostras de raízes de videira coletadas de pés franco das cultivares Niágara Rosada, principalmente, foram observadas plantas com sintomas de murcha, amarelecimento de folhas, e, ocasionalmente, morte; Não foi possível associar esses sintomas com infestações nas raízes e elevados níveis populacionais de *Meloidogyne* sp. no solo. No entanto, analisando-se a nematofauna em parte das raízes trituradas pelo método de Hussey e Barker (1973), foi possível observar a presença de outros gêneros de fitonematoides como, *Mesocriconema* sp., *Pratylenchus* sp., *Aphelenchus* sp. e *Tylenchus* sp.,

(dados não apresentados). Desta forma, estudos adicionais sobre esta diversidade de gêneros em videira, são necessários, uma vez que há relatos de gêneros como *Criconemoides*, o qual pode estar associado ao declínio da videira (AMBROGIONI et al., 1980; PINKERTON et al., 1999)

O uso de porta-enxertos como '1103 Paulsen', e 'SO4' é recomendado no Sul do Brasil por esses materiais serem resistentes à filoxera (BOTTON, 2008) e apresentarem resistência ou moderada resistência ao nematoide das galhas, principalmente às espécies *M. javanica* e *M. arenaria* (CAMPOS et al., 2003). No entanto, foi possível detectar as duas espécies de *Meloidogyne* citadas parasitando raízes de ambos os porta-enxertos de videira no Rio Grande do Sul (Tabela 1).

No sul da Austrália, estão sendo investigados problemas com nematoide das galhas em pomares enxertados sob '1103 Paulsen', uma vez que esse genótipo é utilizado como alternativa no controle de *M. arenaria*, *M. javanica*, *M. incognita* e *M. hapla*. É possível que a resistência ou tolerância de '1103 Paulsen' ao nematoide das galhas seja espécie-específico. Pois, em estudos anteriores realizados nos Estados Unidos, Loubser e Meyer (1987) relataram a ocorrência de diferentes patótipos ou biótipos do nematóide das galhas em videira. Além disto, conforme os mesmos autores, o grau de resistência de '1103 Paulsen' pode ser modificado por condições de campo, (fertilidade do solo e práticas de irrigação), histórico do cultivo anterior, variabilidade de porta-enxertos ou variação na virulência das espécies de nematoides. Este fato pode explicar, em parte, o porque de '1103 Paulsen' ter se adaptado bem em algumas regiões do Sul da Austrália, onde o nematóide das galhas está presente, e, ter apresentado problemas, em outros. No entanto, mais estudos envolvendo diferentes populações do nematoide das galhas encontradas e as características fisiológicas e bioquímicas do porta-enxerto, bem como a interação com o ambiente devem ser realizados.

No presente estudo, não foi detectada a ocorrência de *M. ethiopica* nos pomares de videira amostrados. Embora em levantamento recente realizado na cultura do quivi (CARNEIRO et al., 2003; SOMAVILLA et al., 2011), essa espécie tenha sido encontrada tanto em viveiros como pomares, a sua presença, representa uma ameaça constante a videira, uma vez que no Chile, *M. ethiopica* é causador de sérios danos nesta cultura (CARNEIRO et al., 2003, CARNEIRO et al. 2007). Devido às proximidades das áreas plantadas de quivi e videira, principalmente na Serra Gaúcha, o conhecimento a nível específico da praga e seu constante

monitoramento torna-se necessário, a fim de se manter a cultura da videira livre desse importante patógeno. *M. ethiopica* possui um grande número de hospedeiros e é um nematoide de difícil erradicação. Portanto, o uso de materiais resistentes ou tolerantes (SOMAVILLA, 2008), nos vinhedos gaúchos, pode contribuir decisivamente na manutenção da produção de uvas e na sobrevivência das plantas em pomares onde esta praga ocorre.

2.3.3 Caracterização morfológica

Através de observações microscópicas da região perineal das fêmeas de cada população estudada, foi possível confirmar as espécies encontradas e identificadas através da isoenzima esterase.

As configurações perineais das populações identificadas por esterase como J3 (Figura 3A), apresentaram arco dorsal baixo, arredondado, e presença de duas incisuras cortando as estrias, de modo que estas se interrompem ao se expandirem do setor dorsal para o ventral, características típicas de *M. javanica* (CHITWOOD, 1949). Embora algumas populações de *M. javanica* tenham apresentado o fenótipo J2 (Figura 3B) na identificação bioquímica com esterase, não foi possível identificar diferença entre essas populações na configuração da região perineal de fêmeas.

As configurações da região perineal das populações caracterizadas como *M. incognita* Est. I2 apresentaram arco dorsal alto e trapezoidal, estrias onduladas e bifurcações na região dos campos laterais, características típicas dessa espécie (figura 3D). Analisando-se as populações Est. A2, com base na configuração perineal das fêmeas, as mesmas apresentaram arco dorsal baixo, arredondado, recuado perto dos campos laterais, sulcos laterais ausentes, marcados por estrias curtas, irregulares e bifurcadas, padrões perineal é típico de *M. arenaria* (Figura 3C).

Já as populações de Est. *Meloidogyne* A3, embora tenham apresentado configuração perineal semelhante a *M. arenaria*, (CHITWOOD, 1949), apresentam padrão perineal oval com arco dorsal moderadamente alto e estrias espaçadas e linhas laterais ausentes. A identificação destas populações com base apenas nesta característica morfológica, ocasionaria um diagnóstico incorreto uma vez que o

fenótipo de esterase (Est A3) confirmou ser de *M. morocciensis* n. sp. (RAMMAH; HIRSCHMANN, 1990) (Figura 3E).

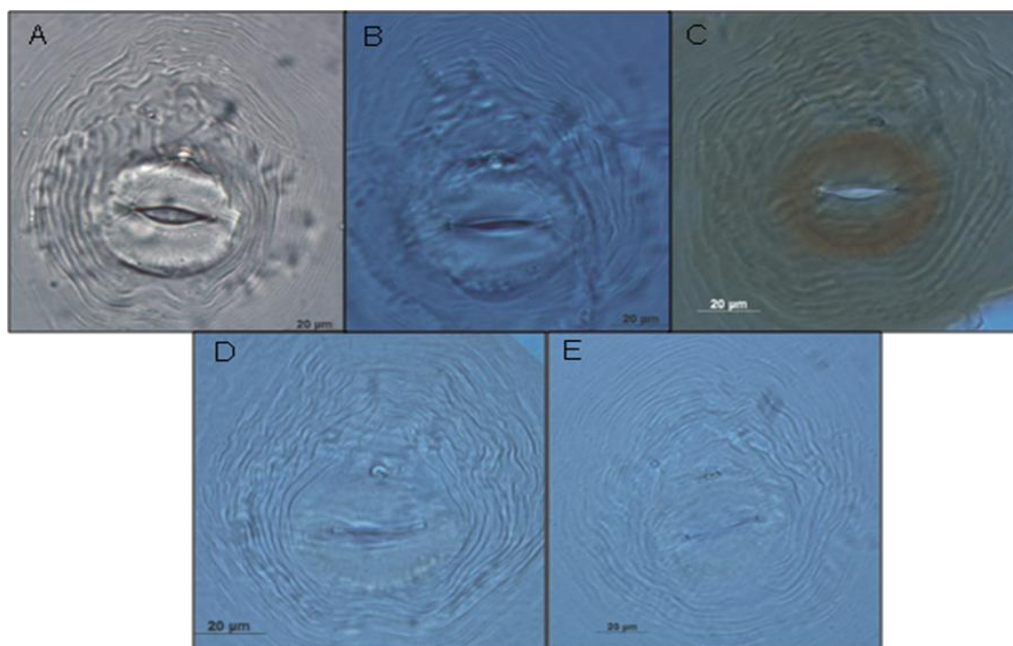


Figura 3: Padrões perineais das espécies de *Meloidogyne* encontradas nos pomares de videira dos estados de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul. A: *Meloidogyne javanica* Est. J3; B: *M. javanica* Est. J2; C: *M. arenaria* Est. A2; D: *M. incognita* Est. I2 e E: *M. morocciensis* Est. A3.

2.4 Conclusões

Há diversidade inter e intraespecífica em espécies do gênero *Meloidogyne* na cultura da videira.

M. javanica, com o fenótipo de esterase J3, é a espécie mais frequente em pomares de videira nos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina;

Ocorrem populações mistas de *M. javanica* com outras espécies do nematoide das galhas em videira;

Entre as amostras de raízes de videira coletadas no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, não há registro de *M. ethiopica*.

3 CAPÍTULO II - Reação de porta-enxertos de videira a *Meloidogyne* spp.

3.1 Introdução

A viticultura brasileira ocupa uma área de aproximadamente 90 mil ha, sendo a produção de uvas, em torno de um milhão e trezentas mil toneladas (IBGE, 2010), concentrando-se principalmente nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste do Brasil. Problemas de ordem fitossanitária são responsáveis por sérios prejuízos à cultura da videira. Dentre esses, danos decorrentes do ataque por fitonematoides podem afetar o desenvolvimento e estabelecimento das plantas no vinhedo, a qualidade dos frutos, a produção e os custos despendidos na cultura (GOMES, 2003). Segundo Sasser (1989), perdas médias anuais, em decorrência do ataque da videira por fitonematoides, são estimadas em 12,5%, entretanto, a redução na produção pode chegar a 20% (RASKI; KRUSBERG, 1984), o que caracteriza esses patógenos como fator limitante à cultura (NAVES, 2005).

O gênero *Meloidogyne* (nematoide das galhas) é considerado o mais importante causador de danos em videiras. Esse nematoide induz a formação de galhas nas raízes, restringindo a absorção de água, nutrientes e o crescimento da planta atacada, além de poder predispor-la ao ataque de outros patógenos. As espécies mais importantes do nematoide das galhas para a videira são *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood, *M. arenaria* (Neal) Chitwood, *M. hapla* Chitwood e *M. ethiopica* Whitehead, 1968, sendo as quatro primeiras, amplamente distribuídas na maioria das regiões onde a videira é cultivada (ANAWAR et al., 2000; MOREIRA; LIMA, 2002; LORDELLO; LORDELLO, 2003); no

entanto, a última espécie apesar de ser relatada em videira somente no Chile, ocorre em outros hospedeiros em países latino americanos como o Brasil, na África e na Europa (CARNEIRO et al., 2003; SIRCA et al, 2004). A incidência do gênero *Meloidogyne* nos vinhedos chilenos pode ser vista nos parreirais, da região metropolitana de Santiago, onde se observa que a cada 5ha de videira, 1ha está contaminado com o nematoide (ABALLAY et al.,1997). De acordo informações acumuladas nos últimos 30 anos, na Califórnia-EUA, estimam-se perdas no cultivo de uvas causadas por *Meloidogyne*, em torno de 20%, Já na Flórida as perdas chegam a 10% (LORDELLO; LORDELLO, 2003). Porém no Brasil, apesar de existirem relatos de danos decorrentes do ataque de *Meloidogyne* sp. em *Vitis* sp., não há dados de perdas nesse patossistema.

As estratégias usadas no manejo de nematoides na videira dependem da fase em que se encontra o empreendimento vitícola, podendo ser adotadas antes do plantio, em vinhedos já estabelecidos, ou na sua renovação. Porta-enxertos de videira são utilizados quase que universalmente em todas as regiões vitícolas (NICOL, et al., 1999). A enxertia é uma prática utilizada na maioria das regiões vitícolas do mundo, principalmente como meio de defesa contra a filoxera (*Daktulosphaira vitifoliae*), inseto sugador de raízes, originado nos Estados Unidos, em videiras da espécie *V. vinifera*, primitivas daquele País. Cultivares de *Vitis labrusca*, assim como seus híbridos - especialmente aqueles de *V. vinifera*, também apresentam certa sensibilidade à praga. Daí o motivo dos porta-enxertos serem videiras de espécies americanas ou seus híbridos, pois foram selecionados a partir de plantas resistentes à filoxera, que evoluíram juntamente com a praga (HERNANDES et al. 2010). Os porta-enxertos também são usados com outros objetivos como adaptação a determinadas condições climáticas (regiões temperadas ou tropicais), adaptação a diferentes tipos de solo (calcários, ácidos, salinos), controle de outras pragas e doenças de solo (nematóides, fusariose...). Além disso, os porta-enxertos também podem induzir maior vigor, precocidade de produção e maior produtividade às copas em relação ao pé-franco (CAMARGO, 2008).

Em geral os porta-enxertos cultivados em regiões de clima temperado também adaptam-se ao cultivo em regiões de climas quentes. Exemplo disto é o início da viticultura no Norte do Paraná, no Noroeste de São Paulo e no Norte de Minas Gerais, onde, nos idos nas décadas de 1970 e de 1980, eram utilizados os porta-enxertos 420-A e Kober 5 BB. Outro exemplo é a viticultura tropical da

Venezuela baseada, em grande parte, no porta-enxerto 1103 Paulsen. Atualmente, no Brasil, graças ao trabalho de melhoramento genético, dispõe-se de porta-enxertos especialmente desenvolvidos para as condições de clima tropical, os quais são recomendados para o cultivo das uvas americanas e híbridas. Dentre esses, podem ser citados os porta-enxertos 'IAC 313 –Tropical', 'IAC 572 –Jales' e 'IAC 766 – Campinas' (CAMARGO; MAIA, 2005).

Já em regiões de clima temperado, os principais porta-enxertos são recomendados de acordo com sua finalidade e são descritos de acordo com sua origem genética. Entre eles 'Rupestris du Lot' originado de *Vitis rupestris*, caracteriza-se pelo hábito de crescimento ereto, sendo, por isso, conhecido pelos agricultores da Serra Gaúcha pelos nomes "Vassourinha", "Pinheirinho" ou "Arboreto". É um porta-enxerto vigoroso, com sistema radicular pivotante, adaptado a solos profundos e que pode ser indicado para a produção de uvas de mesa, uvas para suco e uvas para vinho de mesa para consumo corrente. O porta-enxerto 'Riparia Gloire de Montpellier' (*Vitis riparia*) encontrado nos vinhedos do Rio Grande do Sul, possui um sistema radicular superficial, precoce e que confere pouco vigor à copa. Pode ser uma opção para a produção de uvas precoces de mesa e de uvas finas para vinho. Diversos porta-enxertos originários do grupo *V. berlandieri* x *V. riparia* são cultivados no sul do Brasil, tanto para a produção de uvas para processamento como de uvas para mesa. São porta-enxertos que, em maior ou menor grau, apresentam suscetibilidade à fusariose da videira. Os principais são: 'Solferino', 'Kober 5BB', '420 A', '161-49', 'Téléki' e 'SO4'. Porém o porta-enxerto '1103 Paulsen' originado de *V. berlandieri* x *V. rupestris* por apresentar alta tolerância à fusariose da videira, é o mais difundido no Sul do Brasil, (CAMARGO; MAIA, 2005).

Na Austrália, o nematoide das galhas está amplamente difundido e causa sérios prejuízos a videira e à economia do País. Sendo assim, o uso de porta-enxertos resistentes ou tolerantes é a principal medida de controle (WALKER; COX, 2011). O registro de ocorrência de *M. ethiopica* no Brasil é baseado nos prejuízos que esse nematóide causa no Chile em pomares de videira, a preocupação com seu controle para evitar a disseminação em pomares de videira, no nosso País, merece atenção. Outra espécie de *Meloidogyne* que deve ser estudada e monitorada constantemente a fim de não ser problema futuramente para o cultivo a videira é o *M. enterolobii* (Sin. *M. mayaguensis*). No Brasil, *M. enterolobii* foi assinalada pela primeira vez em 2001, nos municípios de Petrolina-PE, Curaca e Manicoba-BA, causando danos

severos em plantios comerciais de goiabeira (Carneiro et al., 2001), sendo em anos seguintes relatado entre outros estados em Santa Catarina (Gomes et al., 2008) e Rio Grande do Sul (Gomes et al., 2008).

A espécie *M. enterolobii* é polífaga e parasita culturas de elevada importância econômica (Carneiro et al., 2001). Considerando a proximidade de áreas de videira e goiabeira plantadas no Brasil principalmente na região Nordeste, é de fundamental importância o conhecimento da reação de porta-enxertos também a essa espécie. Porém não existem estudos descritos na literatura nesse porta-enxerto.

O uso de porta-enxertos resistentes a *Meloidogyne* spp., de uma forma geral, constitui-se na estratégia de manejo mais eficiente e de baixo custo. Entretanto, a resistência na maioria das vezes não é total, permitindo alguma multiplicação de outros gêneros ou espécies do nematoides das galhas (CAMPOS et al., 2003), assim como de outras pragas importantes como a filoxera, por exemplo. Dessa forma, foi objetivo desse estudo, avaliar a reação de porta-enxertos e cultivares de copa de videiras a *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. enterolobii*.

3.2 Material e Método

Quatro porta-enxertos de videira tropicais ['IAC 313-Tropical' ('Golia' x *Vitis cinerea*), 'IAC 766-Campinas' (106-8 x *V. caribaea*), 'IAC 572-Jales' (*V. caribaea* e 101-14 Mgt), '106-Traviú' (*V. riparia* x (*V. rupestris* x *V. cordifolia*)] sete porta-enxertos de clima temperado ['420 A' (*V. berlandieri* x *V. riparia*), 'Rupestris du Lot' (*V. rupestris*), 'SO4' (*V. berlandieri* x *V. riparia*), 'K5BB Kober' (*V. berlandieri* x *V. riparia*), '1103 Paulsen' (*V. berlandieri* x *V. rupestris*), 'Harmony' (*V. champinii* x 1613C) e 'Salt Creeck' (*V. candicans* x *V. rupestris*)] e as cultivares copa Niágara Rosada e Chardonnay, provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Uva e Vinho e obtidos a partir de cultura de tecidos, foram avaliadas quanto à reação a *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* em condições de casa de vegetação, a temperatura de $25 \pm 5^\circ\text{C}$. Exceto os genótipos 'Niágara Rosada' e '420A', todos os demais foram também avaliados quanto à reação a *M. enterolobii*.

Mudas individualizadas dos diferentes genótipos, mantidas em vasos com 2 kg de solo autoclavado, foram inoculadas com 10.000 ovos + juvenis de segundo estágio (J2) de uma população pura de cada espécie de *Meloidogyne* (HUSSEY; BARKER, 1973), provenientes de videira e mantidas em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) 'Santa Cruz', em casa de vegetação. O ensaio foi conduzido em delineamento completamente casualizado e constou de seis repetições para cada genótipo testado. Plantas de tomateiro cv. Santa Cruz foram inoculadas com o mesmo nível de inóculo, para averiguação de sua viabilidade.

Decorridos oito meses da inoculação, as raízes de cada planta foram separadas da parte aérea, lavadas e avaliadas quanto ao número de galhas. A seguir, realizou-se a extração de ovos das raízes (HUSSEY; BARKER, 1973) para quantificação e, posterior determinação do fator de reprodução (FR) de cada espécie de *Meloidogyne* (FR = população final/população inicial) em cada planta testada (OOSTENBRINK, 1966). Consideraram-se como imunes, aqueles genótipos que apresentaram FR=0,00; resistentes, FR <1,00; e, suscetíveis, FR >1,00. Os valores de número de galhas (transformado em $\sqrt{x+1}$), e FR de *Meloidogyne* spp., obtidos nos respectivos genótipos, foram submetidos a ANOVA, sendo as médias de cada tratamento comparadas entre si pelo teste de agrupamento Scott-Knott (1974) a 5% de probabilidade.

3.3 Resultados e Discussão

Os genótipos estudados demonstraram reação diferenciadas quanto ao número de galhas e suscetibilidade a *Meloidogyne* spp. (Tabelas 1 e 2). De uma forma geral, as cultivares copa foram mais suscetíveis que os porta-enxertos a todas as espécies testadas; entre os porta-enxertos tropicais e de clima temperado, a reação variou com a espécie inoculada. No entanto, a maioria dos porta-enxertos foram resistentes ou imunes a *Meloidogyne* spp.

Analisando-se a variável número de galhas, os maiores valores foram detectados nas raízes das cultivares de copa 'Chardonnay' e 'Niágara Rosada' e no porta-enxerto '106-8 Traviú', independentemente da espécie de *Meloidogyne* avaliada (Tabelas 1 e 2).

Quando avaliada a resistência dos diferentes materiais, verificou-se que o porta-enxerto de videira ‘106-8 Traviú’ e a cultivar copa Chardonnay foram suscetíveis a todas espécies testadas e ‘Niágara Rosada’, suscetível a *M. incognita*, *M. arenaria* e *M. javanica*. Entre os demais porta-enxertos tropicais, ‘IAC 313-Tropical’ foi resistente a todas espécies de *Meloidogyne* e ‘IAC 572-Jales’, além de resistente a *M. arenaria*, *M. incognita* e *M. enterolobii*, comportou-se como imune a *M. javanica*. Apesar de ‘IAC 766’ ter apresentado resistência a *M. arenaria* e *M. enterolobii* e ser imune a *M. javanica*, foi suscetível a *M. incognita* (Tabelas 1 e 2).

Nos porta-enxertos de clima temperado ‘Harmony’, ‘Salt Creeck’, ‘K5BB Kober’ e ‘SO4’, todas as espécies do nematoide das galhas apresentaram baixo FR (0,48 - 0,00), comportando-se os dois primeiros como resistentes, e os dois últimos como imunes a *Meloidogyne* spp. Mesmo ‘Rupestris du Lot’ e ‘420 A’ tendo se comportado como suscetíveis à *M. arenaria* e *M. incognita*, foram resistentes a *M. javanica*. Já ‘1103 Paulsen’, embora tenha apresentado reação de suscetibilidade a *M. arenaria*, foi resistente a *M. incognita* e imune a *M. javanica*. Em relação a *M. enterolobii*, ‘Chardonnay’ e ‘106-8 Traviú’, foram suscetíveis; ‘IAC 766’, ‘Rupestris du Lot’, ‘1103 Paulsen’, ‘IAC 572’ e ‘IAC 313’, resistentes e, ‘Harmony’, ‘Salt Creeck’, ‘K5BB Kober’ e ‘SO4’, imunes ao nematoide (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1: Reação de genótipos de videira a *Meloidogyne incognita* e *M. arenaria*, Pelotas-RS.

Genótipos	<i>Meloidogyne incognita</i>			<i>Meloidogyne arenaria</i>		
	Nº de Galhas	FR	Reação	Nº de Galhas	FR	Reação
Tomateiro Santa Cruz	902,83 a	32,37 a	S	483,5 c	26,11 a	S
‘Chardonnay’ ³	398,80 b	13,36 b	S	1362,00 a	16,03 b	S
‘106-8 Traviú’ ²	325,44 b	11,09 c	S	477,80 c	7,46 c	S
‘IAC 766-Campinas’ ²	91,26 d	8,67 d	S	0,00 f	0,03 f	R
‘Rupestris du Lot’ ¹	245,66 c	7,03 e	S	340,50 d	6,27 c	S
‘Niágara Rosada’ ³	336,00 b	6,85 e	S	627,30 b	4,78 d	S
‘420 A’ ¹	1,16 f	1,15 f	S	133,80 e	2,29 e	S
‘Harmony’ ¹	0,00 f	0,10 g	R	0,00 f	0,20 f	R
‘Salt Creeck’ ¹	43,16 e	0,03 g	R	16,10 f	0,21 f	R
‘1103 Paulsen’ ¹	0,00 f	0,03 g	R	283,30 d	5,00 d	S
‘IAC 572-Jales’ ²	0,00 f	0,02 g	R	0,30 f	0,07 f	R
‘K5BB Kober’ ¹	3,50 f	0,02 g	R	7,10 f	0,40 f	R
‘IAC 313-Tropical’ ²	0,00 f	0,01 g	R	1,10 f	0,48 f	R

'SO4' ¹	0,50 f	0,01 g	R	16,10 f	0.19 f	R
CV (%)	44,4	18,57		35,8	29,07	

FR – Fator de Reprodução; *Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-knott a 5% ** Valores originais transformados em $\sqrt{x+1}$ (S) suscetível; (R) resistente; (I) Imune; CV= Coeficiente de variação 1- porta-enxerto temperado, 2- porta-enxerto tropical, 3-cv copa.

Tabela 2: Reação de genótipos de videira a *Meloidogyne javanica* e *M. enterolobii* Pelotas-RS.

Genótipos	<i>Meloidogyne javanica</i>			<i>Meloidogyne enterolobii</i>		
	Nº de Galhas	FR	Reação	Nº de Galhas	FR	Reação
Tomateiro Santa Cruz	118,60 a	9,60 a	S	448,16 a	34,91 a	S
'106-8 Traviú' ²	33,33 b	2,56 b	S	432,66 a	18,50 b	S
'Chardonnay' ³	28,33 b	2,39 b	S	203,00 b	10,51 c	S
'IAC 766-Campinas' ²	0,00 d	0,00 d	I	2,60 c	0,08 e	R
'Rupestris du Lot' ¹	0,00 d	0,01 d	R	3,60 c	0,04 e	R
'Niágara Rosada' ³	123,83 a	1,84 c	S	-	-	-
'420 A' ¹	3,33 c	0,21 d	R	-	-	-
'Harmony' ¹	0,00 d	0,00 d	I	0,00 c	0,00 e	I
'Salt Creeck' ¹	0,00 d	0,00 d	I	0,00 c	0,00 e	I
'1103 Paulsen' ^{1*}	0,00 d	0,00 d	I	1,2 c	0,02 e	R
'IAC 572-Jales' ²	0,00 d	0,00 d	I	4,16 c	0,05 e	R
'K5BB Kober' ¹	0,00 d	0,00 d	I	0,00 c	0,00 e	I
'IAC 313-Tropical' ²	0,00 d	0,09 d	R	0,00 c	0,02 e	R
'SO4' ¹	0,00 d	0,00 d	I	0,00 c	0,00 e	I
CV (%)	33,66	33,52		55,92	37,96	

*Porta-enxerto inoculado com duas populações de *M. javanica*, FR – Fator de Reprodução; *Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-knott 5% ** Valores originais transformados em $\sqrt{x+1}$ (S) suscetível; (R) resistente; (I) Imune; CV= Coeficiente de variação; 1- porta-enxerto temperado, 2- porta-enxerto tropical, 3-cv copa.

A reação de suscetibilidade de 'IAC 766-Campinas' a *M. incognita*, verificada nesse estudo (Tabela 1), corrobora com o relato de Gomes et al (2005), onde os autores detectaram *M. incognita* causando severos danos na cultivar de videira Festival sob este mesmo porta-enxerto de videira. Considerando a disponibilidade de informações sobre a reação de porta-enxertos tropicais a *Meloidogyne* spp., há apenas um relato citado por Camargo (1998) onde 'IAC 313-Tropical' é referido como tolerante a 'nematoides', porém, o autor não informa quais nematoides e ou espécies estão relacionadas a este genótipo. Assim, todo conhecimento gerado a cerca da reação desses genótipos vem a contribuir decisivamente no manejo de áreas infestadas pelas espécies do nematoide das galhas testadas nesse trabalho.

O alto nível de resistência dos porta-enxertos de clima temperado ‘Salt Creek’, ‘K5BB’, ‘SO4’, ‘Harmony’ a todas espécies testadas, estão de acordo com trabalhos realizados por diferentes autores, onde os mesmos relatam estes materiais como resistentes àquelas espécies de maior frequência no Brasil: *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* (CAMPOS, et al., 2003; TÉLIS; LANDA, 2007; NOGUEIRA, 1984; LOUBSER, 1989). Além do mais, ‘SO4’ é resistente a *Tylenchulus semipenetrans* e *Pratylenchus* spp., sendo bastante utilizado na viticultura gaúcha e catarinense por também apresentar resistência a filoxera e ser tolerante a seca (PINOCHET et al., 1982, HERNANDES, 2010); já ‘Salt Creeck’ apresenta uma boa resistência a *Xiphinema index* (COIRO et al., 1990) e é considerado moderadamente resistente à filoxera (*Daktulospharia vitifoliae*) (WOLPERT et al, 1992). Apesar da resistência de ‘Harmony’ as diferentes espécies testadas (Tabela 1 e 2), segundo McKenry et al. (2001) este genótipo tem seu uso restrito por apresentar características culturais indesejáveis e ser de propagação difícil (LORDELLO; LORDELLO, 2003), o que poderia limitar o seu uso na prática. Já o porta-enxerto ‘K5BB’, de médio vigor, apresenta bom enraizamento, sendo muito utilizado e difundido pela Cia Vinícola Riograndense para o cultivo de uvas finas (HERNANDES, et al., 2010).

Apesar dos porta-enxertos de clima temperado ‘Rupestris du Lot’ e ‘420 A’ terem se comportado como suscetíveis a *M. incognita* e *M. arenaria* (Tabela 1), os mesmos são descritos na literatura como resistentes (NOGUEIRA, 1984) ou tolerantes (URIZ, 1986) a ambas espécies. Da mesma forma, o porta-enxerto ‘1103 Paulsen’ que se comportou como suscetível a *M. arenaria* e resistente ou imune a *M. incognita* e *M. javanica* no presente estudo, em outros trabalhos, foi considerado moderadamente resistente ou suscetível a *M. incognita* (LOUBSER, 1989; BOULBAS, 1992; GUTIÉRREZ-GUTIÉRREZ et al., 2011) e resistente a *M. arenaria* e *M. javanica* (NOGUEIRA, 1984; BOUBALS, 1979; BOULBAS 1992). Já Gutiérrez-Gutiérrez et al. (2011), considerou esse porta-enxerto como suscetível a *M. arenaria* e *M. javanica*. Essas mesmas reações foram também constatadas com o porta-enxerto SO4, que apesar de ser descrito como resistente, foi imune a *M. javanica*. De acordo com Loubser e Meyer (1987) as diferenças observadas quanto a reação de ‘Paulsen 1103’ a *Meloidogyne* spp., são atribuídas ao grau de resistência desse material, o qual pode ser modificada por condições de campo como fertilidade do solo, irrigação,

diferenças clonais do porta-enxerto bem como pela variação na virulência da espécie do nematoide.

Os porta-enxertos de clima temperado 'Rupestris du Lot', '420 A' e '1103 Paulsen', de uma forma geral, possuem boa adaptação a climas mais frios e características agrônômicas distintas: 'Rupestris Du lot', é um porta-enxerto vigoroso, com sistema radicular adaptado a solos profundos e é indicado para ser enxertados em cultivares de mesa, para sucos e vinhos. '420 A', é pouco vigoroso e de difusão restrita, apresenta dificuldade de enraizamento, porém é uma boa opção como porta-enxerto de cultivares finas de mesa (CAMARGO, 2008). Em função de sua alta tolerância à fusariose, '1103 Paulsen' teve grande difusão no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina nos últimos anos. É vigoroso, enraíza com facilidade e apresenta boa pega de enxertia, assim como também tem demonstrado boa afinidade geral com as diversas cultivares, tanto de uvas para mesa quanto para processamento (CAMARGO, 2008).

A suscetibilidade das cultivares copa Niágara Rosada e Chardonnay às espécies de *Meloidogyne* testadas (Tabela1) reforça a importância do uso de porta-enxertos resistente ao nematoide das galhas como estratégia de controle onde os mesmos ocorrem. Tais evidências somam-se aos resultados obtidos por Gomes et al. (2009) em levantamento nematológico realizado na serra gaúcha, onde os autores verificaram a ocorrência de *Meloidogyne* spp. em mais de 80% dos pomares de videira formados diretamente por plantas obtidas de pés francos das cultivares das videira Niágara Rosada, Concord, além de Bordô Longo.

Somavilla (2008) avaliando a reação dos mesmos porta-enxertos testados no presente estudo a *M. ethiopica*, uma espécie que causa prejuízos a videira no Chile (CARNEIRO et al., 2007), constatou que 'SO4', 'K5BB Kober', 'IAC 313-Tropical', '1103 Paulsen', 'Harmony', 'IAC 572-Jales' e 'Salt Creeck', apresentaram reação de resistência a essa espécie. No entanto, os porta-enxertos 'Solferino', '420 A', '106-8 Traviú', 'IAC 766-Campinas' e 'Rupestris du Lot' e as cultivares 'Niágara Rosada' e 'Chardonnay', foram suscetíveis ao nematoide. Dessa forma, de acordo com os resultados desse trabalho, os porta-enxertos considerados suscetíveis por Somavilla (2008), também apresentaram essa mesma reação a *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. enterolobbi*, não sendo, portanto, indicados para plantio em áreas de videira infestadas por essas espécies. Levando-se em consideração a alta agressividade de *M. ethiopica* à videira e sua presença em pomares de quivi na Serra

Gaúcha (SOMAVILLA et al., 2011), assim como também, a ocorrência de outras espécies do nematoide das galhas no Rio Grande do Sul (GOMES et al, 2009; NAVES, et. al., 2004), reforça-se a importância do conhecimento da reação destes materiais como estratégia de manejo em áreas contaminadas por *Meloidogyne* spp.

A resistência de todos os porta-enxertos de clima temperado e dos tropicais 'IAC 766-Campinas', 'IAC 572-Jales' e 'IAC 313-Tropical' a *M. enterolobii* (Sin. *M. mayaguensis*), detectada nesse estudo, contribui como opção de uso em áreas infestadas por essa importante espécie, que, além de ter disimado a goiabeira no Nordeste do Brasil, está presente em diversos estados do sudeste e do sul do País, afetando também, outras culturas de importância agrícola (CARNEIRO et al. 2001; ALMEIDA et al., 2006; TORRES et al., 2005; GOMES et al., 2008; MOREIRA et al., 2003a; MOREIRA et al., 2003b). Essa espécie quebra a resistência do tomateiro (*Lycopersicon sculentum* Mill) 'Rossol' portador do gene Mi, da batata doce 'CDH' e da soja 'Forrest' resistentes a *M. incognita* e *M. arenaria*. Além disso, *M. enterolobii* tem alta taxa de reprodução em diferentes espécies vegetais, demandando medidas quarentenárias que impeçam sua disseminação no País (CARNEIRO et al., 2001). Visto a proximidade de algumas áreas cultivadas com videira próximas de locais onde essa espécie já foi detectada, o uso de porta-enxertos resistentes em substituição a materiais suscetíveis (porta-enxerto tropical '106-8 Travíú' e pés francos de 'Niágara Rosada' ou 'Chardonnay') é de fundamental importância para se evitar danos na cultura da videira.

O uso de porta-enxertos resistentes e com qualidades agronômicas satisfatórias às condições do local de plantio, de um modo geral, constitui-se na medida mais eficiente para controle de fitonematoides, conforme abordado anteriormente, pois além de evitar o aumento das populações desses patógenos, atende ao interesse do produtor em obter maior produção, melhor qualidade dos frutos e menores custos de produção. Assim, o uso de porta-enxertos de videiras resistentes a *Meloidogyne* spp. em associação com outras características como resistência a filoxera, a pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis* Hempel), a fungos de solo ou tolerância ao encharcamento do solo, pode constituir uma importante ferramenta no manejo integrado de pragas de importância agrícola para a videira (LORDELLO; LORDELLO, 2003).

3.4 Conclusões

Nos porta-enxertos de videira de clima temperado 'K5BB Kober', 'SO4', 'Salt Creek' e 'Harmony' e nos tropicais 'IAC 572-Jales' e 'IAC 313-Tropical' há resistência ou imunidade as espécies *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. incognita* e *M. enterolobii* nas condições testadas;

No Porta-enxerto tropical '106-8 Traviú' e nas cultivares de copa 'Niágara rosada' e 'Chardonnay' há suscetibilidade à *Meloidogyne* spp.

4 CAPÍTULO III - Caracterização histopatológica de raízes de porta-enxertos de videira parasitadas por *Meloidogyne ethiopica*

4.1 Introdução

O gênero *Meloidogyne* é considerado como um dos mais importantes para a agricultura mundial, pois além de estar distribuído pelas mais variadas regiões geográficas do globo, apresenta uma ampla gama de hospedeiros, parasitando diversas espécies vegetais. Espécies desse gênero são pragas das principais culturas em climas tropicais, subtropicais e temperados (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991).

Populações de determinadas espécies de *Meloidogyne* (ex: *M. incognita*) ocorrem como raças fisiológicas com capacidades variadas para reprodução em plantas diferenciadoras (HARTMAN; SASSER, 1985). A reprodução do nematoide das galhas varia em função da planta hospedeira, entretanto, esses nematoides se adaptam facilmente em diferentes espécies vegetais, assegurando a sua sobrevivência por longos períodos, em diferentes tipos de ecossistemas naturais (FERRAZ, 2001).

O ciclo vital de *Meloidogyne* spp. inicia-se com os ovos que são depositados pela fêmea numa matriz gelatinosa secretada por glândulas retais e normalmente externa a raiz parasitada, cuja função é de proteger os ovos contra a dessecação e outros fatores adversos do ambiente. O desenvolvimento embrionário do nematoide no interior do ovo resulta na formação do juvenil de primeiro estágio (J1). A primeira ecdise ocorre ainda no interior do ovo, originando o juvenil de segundo estágio (J2).

Assim que os J2 eclodem, atraídos pelos exsudados da planta, migram pelo solo procurando raízes para penetrar. Os J2 movem-se em direção as pontas das raízes e as penetram através do estilete, movimentam-se por entre as células dos tecidos da planta e migram até a zona de alongação da raiz, na periferia do cilindro central, onde estabelecem o seu sitio de alimentação no parênquima vascular, iniciando, assim, um complexo relacionamento com a planta hospedeira (TAYLOR; SASSER, 1978).

As primeiras punções do estilete são acompanhadas de secreções das glândulas esofagianas que causam um crescimento das células do parênquima da raiz, levando à formação das "células gigantes" nutridoras ou sincício, pela destruição das paredes celulares, aumento do núcleo e mudanças protoplasmáticas. Ao mesmo tempo, uma intensa multiplicação celular (hiperplasia) causa o aumento das raízes, formando as galhas. Os J2, então, sofrem ecdises, dando origem a J3 e J4 e, finalmente, aos adultos, machos e fêmeas. Logo após a última ecdise, a fêmea adulta recomeça a se alimentar, permanecendo no mesmo sítio até o restante de sua vida. Durante esse desenvolvimento pós embrionário, o sistema reprodutivo desenvolve-se e crescem as gônadas funcionais (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991).

A mudança de forma nos machos (piriforme para vermiforme) ocorre durante a ecdise de J4 para adulto, na qual o corpo se alonga, assumindo uma forma vermiforme. A duração do ciclo de vida é extremamente variável para cada espécie de *Meloidogyne*, dependendo principalmente da temperatura além da susceptibilidade da planta hospedeira e das condições químicas e físicas do solo (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991).

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* usualmente causam a formação de galhas em raízes de plantas hospedeiras suscetíveis. Plantas suscetíveis reagem às secreções produzidas pelos J2 através de mudanças morfológicas e fisiológicas. As células gigantes servem como fonte alimentar exclusiva para fases parasitarias posteriores do nematóide sedentário, sendo estabelecidas no floema ou no parênquima adjacente. O estabelecimento e a manutenção das células gigantes são essenciais para suprir demandas nutricionais de crescimento e reprodução do nematoide. Essas células são altamente especializadas (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991). Segundo Karssen e Moens (2006), a indução e a manutenção dessas células tem sido alvo de várias hipóteses e sugere que ambas

são controladas por secreções aplicadas com o estilete e originadas das glândulas sub-ventrais e dorsais do nematoide. A remoção dos solutos das células gigantes pode ser um dos estímulos necessários para manter o metabolismo ativo dessas células. Caso o hospedeiro não responda à formação da célula gigante, os J2s não se desenvolvem e, conseqüentemente, morrem por falta de alimento. Se, por acaso, eles possuírem reservas alimentares suficientes, podem migrar para fora da raiz e penetrar em outra raiz. Um dos primeiros sinais de indução de células gigantes é a formação de células vasculares binucleadas. No começo da formação dessas células, as mesmas são preenchidas predominantemente por vacúolos celulares e os núcleos são localizados no citoplasma periférico. Dentro da célula, ocorre a endomitose de diferentes núcleos sincronicamente; há aumento do conteúdo citoplasmático e a célula expande-se lateralmente (KARSSSEN; MOENS, 2006).

Dentre os fatores climáticos, que afetam o nematoide das galhas, a temperatura interfere diretamente na duração de seu ciclo de vida, assim como também, nas diferentes fases de seu desenvolvimento, que vão desde a embriogenese no interior do ovo, eclosão, mobilidade e migração dos juvenis no solo, penetração, parasitismo, até o desenvolvimento e reprodução na planta hospedeira (LEE; ATKISON, 1977).

De acordo com Taylor e Sasser (1978), temperaturas ótimas para *M. hapla* variam de 15°C a 25°C e para *M. javanica* e espécies relacionadas, entre 25°C e 30°C. Acima de 40°C ou abaixo de 5°C, a maioria das espécies de *Meloidogyne* tem pouca atividade. O efeito da temperatura sobre o ciclo de vida e desenvolvimento do nematoide das galhas, está associado a outros fatores climáticos como umidade, luz, aeração e à planta hospedeira onde o nematoide se desenvolve (FERRIS; VAN GOOD, 1979). Em plantas de fumo, por exemplo, *M. javanica* completa seu ciclo de vida aos 56 dias a 14°C e aos 21 dias a 26°C (MILNE; PLESSIS, 1964). Na cultura da batata *M. hapla* completa o ciclo de vida em 3 a 4 semana com temperatura do solo em torno de 18°C (BRINKMAN; MULDER, 1996). Já em videira 'Cabernet Sauvignon' e 'Teleki-5C', Anwar e McKenry (2002) estudando o desenvolvimento de *M. arenaria* em porta-enxertos de videira em casa de vegetação a 30°C, observaram a presença de fêmeas adultas no 18º dia após a inoculação, no entanto, somente no 27º dia, a maioria desses indivíduos completou seu ciclo.

M. ethiopica, uma espécie tropical que causa sérios danos na cultura da videira no Chile (CARNEIRO et al., 2003, 2007), parece requerer temperaturas

específicas conforme a planta hospedeira para que sua reprodução seja bem sucedida. A influência da temperatura sobre o ciclo de vida dessa espécie foi investigada em diferentes plantas anuais por Strajnar et al. (2011). De acordo com os autores, *M. ethiopica* teve seu ciclo completo aos 51, 24 e 36 dias, a uma temperatura média diária de 18,3°C, 22,7°C e 26,3°C, respectivamente, em plantas de tomate e feijão, porém a 13,9°C, não foi capaz de se reproduzir em ambos os hospedeiros. Ainda segundo os autores, a capacidade deste nematoide sobreviver sob condições de clima continental, com verões quentes e invernos frios, bem como em clima sub-mediterrânico, com verões quentes e invernos suaves, define o potencial de riscos de propagação e estabelecimento desta espécie tropical do nematóide das galhas. Segundo Evans (1987), em condições de campo, a temperatura é um fator extremamente importante para o sucesso do desenvolvimento e a manutenção da população do nematoide dentro ou fora da planta. Para Lee e Atkinson (1977), o fator temperatura pode controlar o desenvolvimento embrionário dentro dos ovos e a habilidade dos J2 em romper e liberar as membranas do ovo. Ainda não há informação disponíveis na literatura quanto as temperaturas ótimas sobre a eclosão, penetração, desenvolvimento e reprodução de *M. ethiopica* em videira.

Os mecanismos de resistência de plantas a nematóides são vários, complexos e, em alguns casos, poucos conhecidos. A resistência pode ser pré-infectiva se ocorrer antes que o nematóide penetre a raiz da planta (HUANG, 1985), como por exemplo, efeitos repelentes e ou nematicida de determinadas substâncias químicas presentes no exsudato radicular de algumas espécies vegetais. Em plantas resistentes, pode ser também pós-infectivas, ocorrendo após a penetração do J2 com morte celular nos locais de infecção que impedem ou delimitam o desenvolvimento do nematoide no tecido vegetal. Nos últimos 30 anos tem sido demonstrados diversos mecanismos de resistência em plantas parasitadas por nematoide das galhas, entre eles, a reação de hipersensibilidade que se deve ao acúmulo de compostos fenólicos, formação de fitoalexinas e a atividade das enzimas fenilalanina amônia liase (PAL), b-glucanase, peroxidase e polifenoloxidase, dentre outras (GIEBEL, 1982; HUANG, 1985; ROBERTS et al. 1998; FRAGOSO et al., 2007).

A expressão da incompatibilidade ou resistência, depois da penetração do J2, é basicamente a mesma observada para outros patógenos. Kaplan e Davis,

(1987) dividiram a resposta da resistência em duas fases: determinativa e expressiva. A primeira envolve a detecção de células da planta pelo nematóide, numa reação do tipo elicitor-receptor. O elicitor provavelmente é produzido na glândula esofagiana do nematóide e é injetado no tecido do hospedeiro através do estilete. Esse reconhecimento gera, direta ou indiretamente, um sinal responsável pela reação de hipersensibilidade, envolvendo ativação de genes, síntese de mRNA e transcrição de DNA. A próxima fase expressiva inclui uma sucessão de eventos de regulação gênica e modificações bioquímicas que são iniciadas com o processo de sinalização, prevenindo o desenvolvimento do nematóide. Nessa fase, não há desenvolvimento normal dos sítios de alimentação, que se degeneram. Dessa forma, na maior parte das plantas resistentes, poucos nematóides desenvolvem-se até o estágio adulto, há formação de número maior de machos e quando eventuais fêmeas se reproduzem, o fazem com taxas mais baixas de fecundidade (SILVA, 2001).

Após a penetração, os nematóides ainda podem ser afetados por compostos tóxicos já presentes nos tecidos das plantas (resistência bioquímica pré-formada). Correlação positiva entre os teores de compostos fenólicos e a resistência de tomate a *M. incognita* já foi observado em maior concentração em cultivares resistentes de tomate (HUANG, 1985). O mecanismo de resistência à maioria das espécies de nematoides das galhas envolve uma reação de hipersensibilidade com morte celular (necroses), que ocorre ao redor dos locais de alimentação do nematoides (ANWAR; McKENRY, 2000). Esse tipo de reação do hospedeiro pode atuar como uma barreira física ou bioquímica para evitar a penetração do nematoide em raízes de plantas resistentes (HUSSEY, 1985).

Tordable et al. (2009) estudando o patossistema: videira x *M. ethiopica*, analisaram raízes de videira 'Cabernet Sauvignon' atacadas ou não pelo nematoide e provenientes de pomar localizado no Chile. Nas raízes atacadas, foram observadas galhas de aproximadamente 5cm de diâmetro, onde se detectou um importante aumento do cilindro central devido a presença de tecido hiperplásico. No entanto, estudos relacionados à resistência genética de videiras a *M. ethiopica*, em porta-enxertos resistentes, ainda não foram realizados. Levando-se em conta a carência de trabalhos nesse patossistema, torna-se importante a realização de estudos histopatológicos referentes às alterações anatômicas causadas por

Meloidogyne em células das raízes de videira, a fim de entender-se os mecanismos de resistência envolvidos.

Considerando as questões acima abordadas, foi objetivo desse trabalho: avaliar o efeito *in vitro* de diferentes temperaturas sobre a eclosão de J2 de *M. ethiopica*; e, analisar as alterações histológicas associadas à infecção por esse nematóide em porta-enxertos de videira suscetível e resistente, a fim de conhecer os mecanismos que atuam para controlar a infecção na planta.

4.2 Material e Método

4.2.1 Influência da temperatura sobre a eclosão de juvenis de segundo estágio de *M. ethiopica*.

Avaliou-se o efeito de diferentes temperaturas sobre a eclosão de J2 de *M. ethiopica* em bioensaio conduzido em laboratório. Para realização deste trabalho, utilizou-se como inóculo, uma suspensão de ovos de *M. ethiopica* obtida (HUSSEY; BARKER, 1973) a partir de raízes de tomateiro infectadas com uma população pura do nematoide, mantida em casa de vegetação.

O experimento foi conduzido em placas de Elisa esterilizadas, onde em cada cavidade, inicialmente foram depositados 100 µL de água destilada contendo 50 ovos de *M. ethiopica*. A seguir, o material foi incubado em BOD a 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40°C, utilizando-se três repetições para cada tratamento. Decorridos quatro, oito, doze e dezesseis dias da incubação, avaliou-se, sob microscópio estereoscópico, a influência das diferentes temperaturas sobre o número de J2 eclodidos (NJ2E) em cada repetição. Os dados de percentagem de eclosão, obtidos aos 16 dias nos diferentes tratamentos, foram submetidas à ANOVA e ao teste de Duncan a 5% de probabilidade. Além disso, os valores de NJ2E (%), obtidos ao longo das quatro avaliações, foram submetidos a análises de regressão polinomial (SAS System 9.0, SAS Institute, Cary, NC-USA).

4.2.2 Histopatologia comparada em porta-enxerto de videira resistente e suscetível à *M. ethiopica*

Para realização desse estudo, foram escolhidos os porta enxertos '1103 Paulsen' e '106- Ripária do Traviú' por terem se comportado como resistente e suscetível a *M. ethiopica*, respectivamente, em trabalho anterior (SOMAVILLA et al., 2008). A temperatura utilizada para condução desse experimento, foi baseada no estudo realizado por Strajnar et al, (2011), e nos resultados do bioteste *in vitro* que apresentaram os maiores índices de eclosão.

Mudas de ambos os porta enxertos de videira, oriundas de cultura de tecidos, foram transplantadas para vasos plásticos de 300 mL contendo areia grossa esterilizada, e mantidas em fitotron com temperatura constante de $26^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (item 4.2.1) e fotoperíodo de 14h luz e 10h escuro. A seguir, as plantas foram inoculadas com 10.000 juvenis de segundo estágio de *M. ethiopica*.

Os pontos de coletas foram determinados aos 6, 10, 15, 20, 27, 31, 35 e 40 dias após a inoculação (DAI), onde foram coletadas duas plantas de cada porta-enxerto. As raízes de uma planta resistente e de outra suscetível, provenientes de cada período de coleta, foram coradas com fucsina ácida, para a observação da penetração dos J2, e desenvolvimento de *M. ethiopica* segundo a metodologia descrita por Byrd *et al.* (1983). Inicialmente, as raízes foram lavadas, mergulhadas em 200 mL de solução aquosa de NaOCl a 5,25% por 4 minutos. Posteriormente, as raízes foram lavadas em água corrente por 45 segundos e mantidas em um béquer com água por 15 minutos a fim de retirar o excesso de NaOCl. Em seguida, as raízes foram cortadas em fragmentos de 1 a 2 cm e transferidas para um béquer com 2 mL de uma solução de fucsina ácida (1,25g de fucsina ácida, diluída em 125 mL de ácido acético glacial e 375 mL de água destilada), diluída em 40 mL de água. A seguir, a solução com as raízes foi aquecida em microondas por 45 segundos conforme metodologia adaptada por Gomes (2006). Depois de resfriadas, os fragmentos foram descorados com água quente e transferidos para uma placa de Petri para observação ao microscópio estereoscópico. As raízes foram colocadas em uma lâmina com uma gota de glicerol puro e levadas ao microscópio de luz para

serem examinadas e fotodocumentadas quanto ao estágio de desenvolvimento do nematóide e o seu ponto de localização nas raízes para auxílio na próxima etapa.

Após a coloração das raízes, utilizou-se uma planta resistente e outra suscetível, provenientes de cada um dos períodos de coleta, para realização de estudos histopatológicos, conforme a técnica descrita por Pegard et al. (2005). Primeiramente, as plantas foram extraídas do substrato com cuidado para que as raízes não fossem danificadas. A seguir, a parte aérea foi descartada, e as raízes de cada planta, lavadas em água corrente. A partir dos pontos de localização do nematóide nas raízes de videira, fragmentos de aproximadamente 3 mm de comprimento, com ou sem galhas, foram retiradas com o auxílio de um bisturi e de uma pinça fina, sob microscópio estereoscópico. A seguir, estes segmentos de raiz foram fixados em solução de 1% (v:v) de glutaraldeído e 4% (v:v) de formaldeído em 100mM de tampão fosfato com pH 7,2, à temperatura ambiente. Posteriormente, os mesmos foram mantidos sob agitação durante uma noite completa em agitador rotatório, para melhor penetração da solução nas raízes, visando uma melhor fixação do tecido, sem a formação de bolhas em seu interior.

Depois de fixadas, as extremidades das raízes foram lavadas com tampão fosfato de sódio 50mM, pH 7.2, durante 30 minutos por duas vezes. A seguir, as raízes foram desidratadas sob agitação em uma série etanólica crescente de 10 a 100%, com intervalos de 20 minutos entre as trocas; sendo que os banhos na concentração de 100%, foram repetidos duas vezes. Logo após, as extremidades de raízes de ambos os porta-enxertos de videira foram embebidas em resina Technovit 7100® (resina epoxy produzida por Kulzer Friedrichsdorf, Alemanha), sob agitação a 4°C, de acordo com o protocolo do fabricante. Secções longitudinais de 3,5 µm foram montadas, uma a uma, num total de 8.614 cortes, sobre gotas de água, numa lâmina de vidro e postas para secar em placa aquecedora a 50° C por uma noite. Os cortes foram observados, examinados e fotodocumentados, primeiramente sob luz UV em filtro de 365 nm de excitação e 397 nm de emissão para observação da reação de hipersensibilidade, em microscópio de luz, Axiophot Zeiss. Novas observações histopatológicas foram feitas e fotodocumentadas com os cortes corados dos porta-enxerto resistente e suscetível utilizando-se uma solução aquosa de azul de toluidina a 1% (0,1g azul de toluidina, 100mL água destilada).

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Influência da temperatura sobre a eclosão de juvenis de segundo estágio de *M. ethiopica*.

Verificou-se que as maiores percentagens de eclosão dos J2 de *M. ethiopica* foram obtidas nas temperaturas de 25 e 30°C, seguidas de 15 e 20°C, conforme pode ser observado na Tabela 1. Embora tenha ocorrido uma pequena percentagem de eclosão a 35°C, não observou-se a presença de J2 eclodidos a 5°C, 10°C e 40°C.

Analisando-se a evolução da eclosão de *M. ethiopica* ao longo dos 16 dias, observa-se que as maiores percentagens de eclosão foram também observadas no intervalo entre 25°C e 30°C, conforme pode ser observado na Figura 1. No entanto, mesmo em menor proporção, também foi possível observar aumento na percentagem de J2 eclodidos a 15°C e 20°C conforme ajustes quadráticos às referidas regressões nessas temperaturas. Stranjar et al. (2011), estudando a duração do ciclo de vida de *M. ethiopica* em diferentes espécies vegetais hospedeiras, constataram que a reprodução do nematoide foi influenciada tanto pela temperatura como pelo hospedeiro. Nenhuma reprodução foi observada a 13,9°C, e, 22,7°C foi considerada a temperatura ideal para reprodução de *M. ethiopica* em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e pepino; e em tomate, foi a 26,3°C. Embora no presente trabalho não tenha sido estudado o efeito da temperatura sobre a taxa de multiplicação *in vivo* de *M. ethiopica*, os maiores índices de eclosão *in vitro* estão próximos às temperaturas onde os autores observaram maior fator de reprodução do nematóide.

Wallace (1971) verificou que o intervalo de temperatura entre 15°C e 30°C possibilita o desenvolvimento da maioria das espécies de *Meloidogyne*. Em trabalho realizado por Bird (1972) com *M. javanica*, a eclosão de J2 ocorreu mais rapidamente a temperatura de 25 °C *in vitro*; já Campos et al. (2008), estudando o efeito de flutuação de temperatura em ovos de *M. javanica* com estádios de desenvolvimento padronizados, verificaram que o maior percentual de eclosão ocorreu com temperatura fixa aos 28°C, e a redução do tempo de exposição a essa temperatura, reduziu a eclosão dos J2.

Tabela 1: Percentagem de eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne ethiopica* submetidos a diferentes temperaturas aos 16 dias de incubação. Pelotas-RS.

Temperatura eclosão	Eclosão de J2 <i>M. ethiopica</i> (%)
25°	52,2 a*
30°	49,8 a
20°	29,7 b
15°	13,9 c
35°	2,0 d
10°	0,5 e
40°	0,0 e
5°	0,0 e
CV (%)	17,46

*Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, não diferenciam estatisticamente entre si pelo Teste de Duncan a 5%.

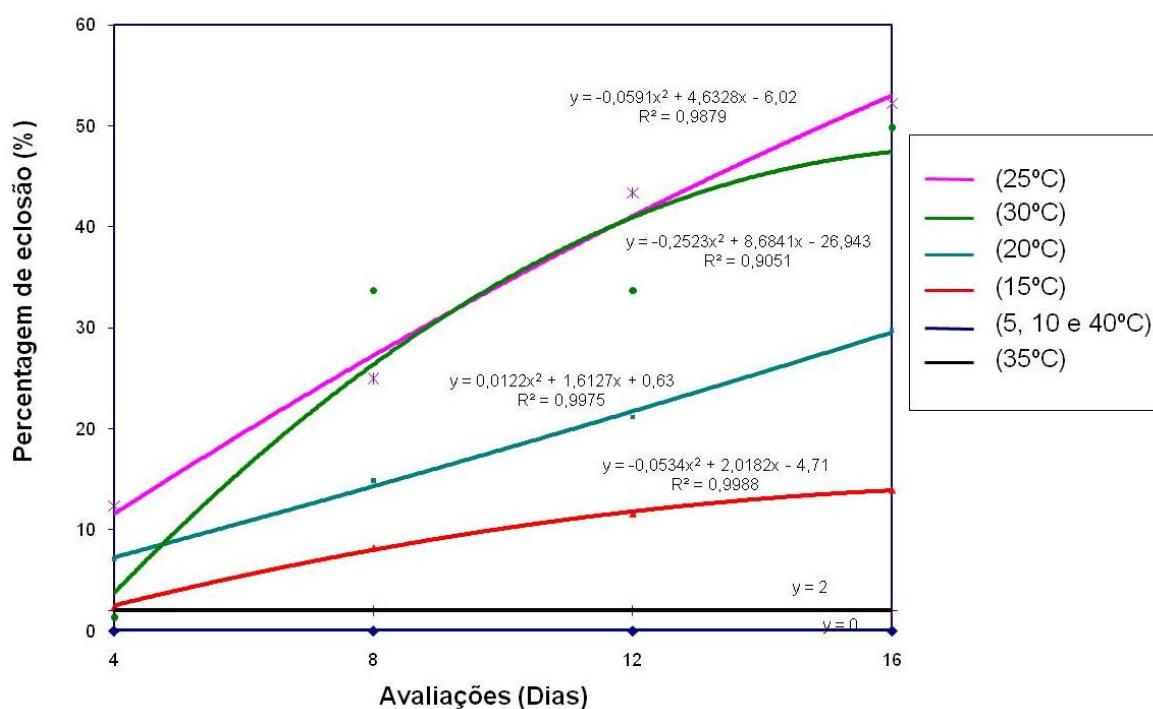


Figura 1: Percentagem de eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne ethiopica* submetidos a diferentes temperaturas.

4.3.2 Histopatologia comparada em porta-enxertos resistente e suscetível a *M. ethiopica*

Através de observações das raízes de videira coradas com fucsina ácida e das secções de radículas coradas com azul de toluidina, visualizadas sob microscópio em luz Ultra Violeta (UV), foi possível acompanhar a duração, em dias, do ciclo de vida de *M. ethiopica* no porta-enxerto suscetível '106 Ripária do Traviú' e no resistente '1103 Paulsen', bem como observar as modificações das células de ambos os porta-enxertos durante o desenvolvimento do nematoide.

4.3.3 Porta-enxerto suscetível

O exame das radículas coradas com fucsina ácida e dos cortes corados com azul de toluidina demonstrou que os J2s de *M. ethiopica* foram capazes de penetrar, migrar e desenvolverem-se normalmente no porta-enxerto suscetível (Figura 2). Analisando-se as raízes coradas com fucsina ácida, observou-se a partir do 6^o e 10^o dia de inoculação (DAI), a penetração de J2 de *M. ethiopica* pela região apical das raízes e às vezes, pela zona de alongação (Figura 2E). Já as observações microscópicas das secções de radículas coradas com azul de toluidina, aos 10DAI, demonstraram a presença de J2s no cilindro central, causando desorganização celular do tecido radicular.

A partir de 10 DAI foi possível visualizar a presença de J3/J4 do nematoide no cilindro central, em fase de alimentação e, aos 15 DAI, muitos J3/J4 já tinham estabelecido sítios de alimentação com seis a 12 células gigantes (dependendo do plano do corte) de aspecto normal; numerosos núcleos, citoplasma denso, além da presença de alguns vacúolos em seu interior (Figura 2A). Ainda, aos 15 DAI, foram observadas pequenas galhas nas raízes do porta-enxerto suscetível (Figura 2B) além de J3/J4 (Figura 2E) que, antes de se transformarem em fêmeas, já alargavam a região dos vasos da raiz.

As observações das secções das raízes do porta-enxerto 'Traviú' parasitadas com *M. ethiopica* aos 20 e 27 DAI (Figura 2C e D), revelaram a presença de fêmeas adultas. Detalhe do aparelho reprodutor feminino com o ovário já formado pode ser visualizado nas Figura 2C e D. Pela observação de secções coradas com azul de toluidina, aos 27 dias, verificou-se que o desenvolvimento das fêmeas de *M. ethiopica* causou dano mecânico no cilindro vascular e no córtex da raiz (Figura 2E), expondo as massas de ovos para fora, completando assim, seu ciclo de vida na videira.

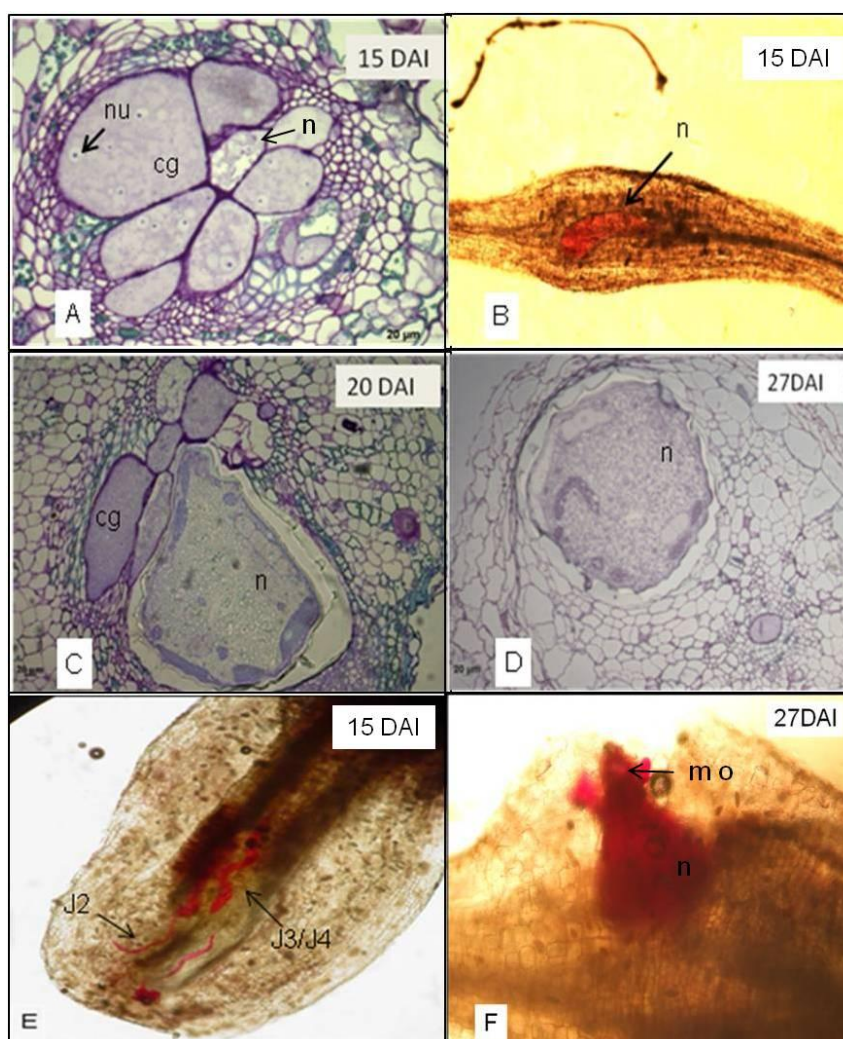


Figura 2: Secções longitudinais de raízes do porta-enxerto suscetível '106 Ripária do Traviú', inoculadas com *M. ethiopica*. A: Secção corada com azul de toluidina mostrando células gigantes bem formadas aos 15DAI, n = nematoide, cg = célula gigante, nu = nucléolo; B: radícula corada com fucsina ácida, mostrando J3/J4 aos 15DAI; C, e D: secções coradas com azul de toluidina, mostrando fêmeas com ovário formado aos 27DAI; E: J2, J3/J4 penetrando pelo ápice da raiz e desenvolvendo no cilindro central aos 15DAI; F: radícula corada com fucsina ácida exibindo galha e fêmea adulta (n) com massa de ovos (mo) externa a raiz.

4.3.4 Porta-enxerto resistente

Observações nas raízes coradas com fuccina ácida demonstraram que os J2 de *M. ethiopica* foram capazes de penetrar nas raízes do porta-enxerto resistente '1103 Paulsen' aos 6 DAI (Figura 3A) pela região de alongação da coifa, migrando paralelamente ao cilindro central. Por meio de secções visualizadas à luz UV, obtidas aos 10 e 15 DAI, foi possível observar uma autofluorescência de cor azul esbranquiçada (Figura 4A-C). Essa coloração é típica de formação de compostos fenólicos ligados à reação de hipersensibilidade (RH), sendo observada nas paredes celulares, bem como ao redor do corpo do J2, impedindo a formação de células gigantes (GOMES, 2006). Essas secções, ao serem coradas com azul de toluidina, apresentaram uma coloração escura nos mesmos locais (Figura 4B-D), característica de necrose (morte celular). Da mesma forma, nessas secções, foram também observados vasos condutores com autofluorescência azul-esbranquiçada, demonstrando a presença de lignina da planta (Figura 4C-E).

Observações nas raízes do porta-enxerto '1103 Paulsen', coradas com fucsina ácida, revelaram a presença de J2 ainda aos 15DAI (Figura 3B) e nas regiões subapicais até os 35DAI (Figura 3C-D) e 40 DAI. Por meio de cortes realizados em radículas, aos 20 DAI, foi possível visualizar apenas galerias formadas nas células do cilindro central com estruturas de coloração mais escuras, sugerindo serem restos do nematoide degenerado. Raízes coradas com fuccina ácida nessa etapa, e, também aos 27 DAI ainda revelavam a presença de J2 nas raízes. Em todo o sistema radicular da planta analisada e fixada para realizar os cortes histológicos, aos 27 DAI, foi possível detectar uma única galha. No entanto, ao serem realizados cortes histológicos nessa secção e corá-los com azul de toluidina, observou-se a presença de uma fêmea com células gigantes mal formadas, membranas celulares com espessamento mínimo, e conteúdo degenerado (Figura 4E-F). Este fato pode ser analisado como um segundo mecanismo de resistência já observado em outras culturas como cafeeiro (ANTHONY et al., 2005) e algodoeiro (CARNEIRO et al., 2005a). Nesse mecanismo há a formação de fêmeas com sítios de alimentação inadequados que não produzem ovos e que se degeneram com o passar do tempo.

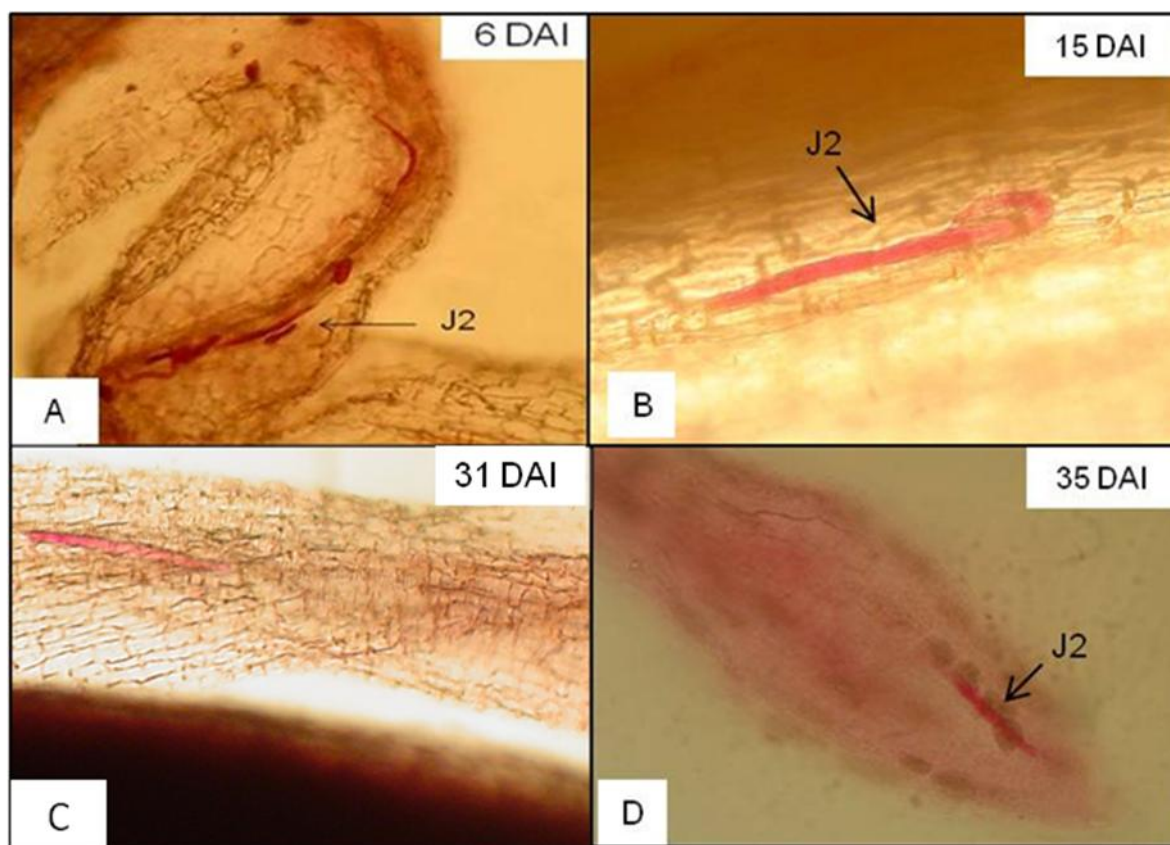


Figura 3: Secções longitudinais de raízes do porta-enxerto de videira resistente 'Paulsen 1103', inoculadas com *Meloidogyne ethiopica*. A: J2 penetrando na raiz aos 6DAI; B: J2 presente na raiz aos 15DAI; C-D: J2 no interior da raiz aos 31 e 35DAI.

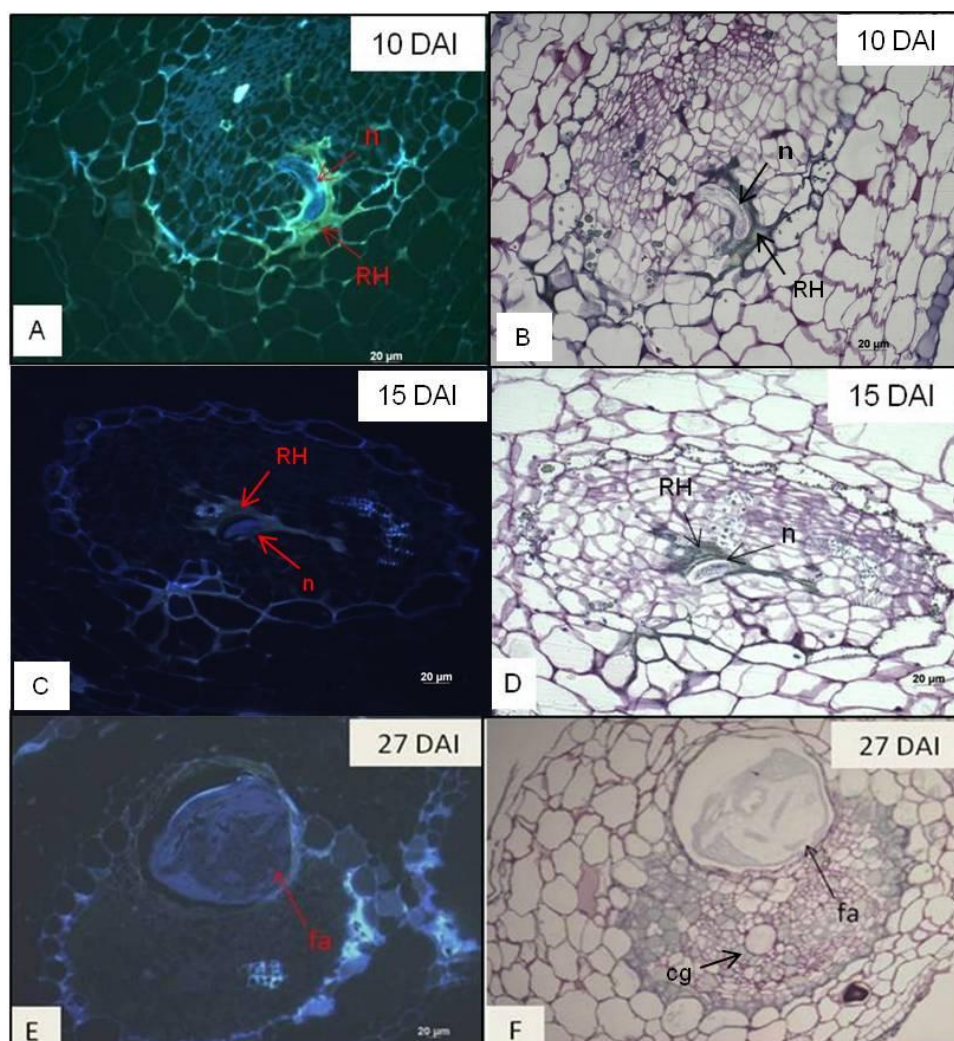


Figura 4: Secções longitudinais de raízes do porta-enxerto de videira resistente 'Paulsen 1103', inoculadas com *Meloidogyne ethiopica*. B, D, F: secções coradas com azul de toluidina. A, C, E: secções não coradas visualizadas ao UV. RH = reação de hipersensibilidade, n = nematoide, fa = fêmea adulta, cg = célula gigante.

Apesar do início da penetração ter ocorrido aos 6DAI em ambos os genótipos de videira inoculados, a grande maioria dos J2s de *M. ethiopica* que penetraram no porta-enxerto resistente não conseguiram se desenvolver normalmente até chegarem ao estágio adulto. A baixa penetração de J2 em plantas resistentes, e o retardamento no desenvolvimento da mesma é um fenômeno relativamente comum na interação planta-nematoide, em vários patossistemas, como por exemplo em cenoura a *M. javanica* (HUANG et al., 1986), soja a *M. incognita* (NIBLACK et al., 1986), pimenta a *Meloidogyne* spp. (BLEVE-ZACHEO et al., 1998, PEGARD et al., 2005) e amendoim a *M. arenaria* raça 1 (ANWAR; MCKENRY, 2002,

PROITE et al., 2008). Anwar e McKenry (2002), estudando a penetração de *M. arenaria* nos porta-enxertos de videira resistente '10-23B' e 'RS-3' e na cultivar Cabernet Sauvignon, verificaram que os J2 penetraram aos 4 DAI em '10-23B' e 'Cabernet Sauvignon', sendo que nesse período a penetração foi mais significativa nas raízes de 'Cabernet'. Somente uma semana mais tarde ocorreu a penetração de J2 nas raízes do outro porta-enxerto. Os autores ainda observaram que o desenvolvimento do nematoide foi mais rápido nas raízes da cultivar suscetível do que nos dois porta-enxertos resistentes.

A resposta de incompatibilidade após a penetração dos J2 de *M. ethiopica* nas raízes do porta-enxerto resistente '1103 Paulsen', observada mais intensamente entre 6 e 15 DAI, pode ser entendida como uma defesa bioquímica bloqueando o desenvolvimento do nematoide no interior da raiz, sendo assim considerada como uma clássica reação de hipersensibilidade (RH). Essa RH já foi referida por diversos autores em espécies como o tomateiro (DROPKIN, 1969), tabaco (GHANNAM et al. 2005), cafeeiro (RODRIGUES et al., 2000 e ANTHONY et al. 2005), pimenteira (PEGARD et al., 2005), amendoineiro (PROITE et al. 2008), dentre outras espécies vegetais resistentes a *Meloidogyne* spp.

A RH detectada no porta-enxerto resistente e caracterizada por formações necróticas fortemente coloridas pelo azul de toluidina, evidencia a morte celular e a restrição das células das raízes da planta ao desenvolvimento do nematoide. Segundo Anwar e McKenry (2000, 2002), a dificuldade de desenvolvimento dos J2 em raízes de porta-enxerto de videira, resistente a *M. arenaria*, foi atribuída a uma reação de hipersensibilidade. Os mesmos autores relataram ainda, que houve RH somente nas raízes dos porta-enxertos resistentes penetrados pelos J2, sendo essa reação observada ao redor da epiderme, entre as células corticais e ao longo do tecido vascular de diferenciação. Assim, a necrose cortical interrompeu ou dificultou a migração dos J2 nos tecidos vasculares e impediu o estabelecimento do sítio de alimentação do nematoide. Essas mesmas reações foram também observadas em acesso de *Pfaffia glomerata* (GOMES, 2006) e de algodão Del Pais nº3 resistentes e inoculados com *M. incognita* (MOTA, 2010), respectivamente.

Entre as moléculas que contribuem para a defesa da planta contra os nematoides e outros patógenos, estão os compostos fenólicos (BAJAJ; MAHAJAN, 1983, GIEBEL, 1970; PEGARD et al., 2005). Assim, os cortes histológicos das radículas de 'Paulsen 1103', observados sob a luz UV, evidenciaram uma

associação entre compostos fenólicos autofluorescentes e resistência ao nematoide das galhas. Pegard *et al.* (2005) também observaram essas alterações em raízes de pimenteiras resistentes, identificando o ácido clorogênico como o principal composto fenólico presente nos extratos de raízes inoculadas com J2 de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*. De acordo com Chang (1969) e Macaron (1975), o ácido clorogênico é um fenol ou composto fenólico que prejudica a sobrevivência do nematoide pelo fato dos produtos de sua oxidação reduzirem significativamente o consumo de oxigênio por estes patógenos.

O fato da maioria dos juvenis que penetraram nas raízes 'Paulsen 1103' apresentarem restrições no seu desenvolvimento normal e manutenção de células gigantes, pode ser atribuído ao pequeno tamanho dessas células nutridoras, também as paredes celulares apresentaram espessamento reduzido e poucos núcleos, não suportando a alimentação de fêmeas normais em ovoposição, ocasionando a baixa reprodução do nematoide no porta-enxerto resistente. Na maioria dos cortes realizados no porta-enxerto resistente, a partir dos 20DAI, observou-se sítios de alimentação mal formados. Essas mesmas observações foram realizadas por Carneiro *et al.* (2005a), estudando o mecanismo de resistência de genótipos de algodoeiro resistentes e suscetíveis a *M. incognita* raça 3. Gomes *et al.* (2010) quando estudaram a resistência de *P. glomerata* a *M. incognita*, também observaram, no acesso resistente, que poucos J2s conseguiram penetrar na raiz e estabelecer o seu sítio de alimentação. De acordo com os autores, esses sítios apresentaram-se com células gigantes bem menores, em menor número e mal formadas comparadas àquelas observadas no acesso suscetível.

Nas raízes do porta-enxerto suscetível, o desenvolvimento do nematoide foi normal, parecendo não existirem mecanismos bioquímicos de defesa nesse genótipo, conforme já observado por Tordable *et al.* (2009) quando avaliaram a penetração e desenvolvimento de J2 em videira Cabernet Sauvignon, suscetível a *M. ethiopica*, e, por Anwar e McKenry (2000), ao avaliarem a mesma cultivar como suscetível a *M. arenaria*. Tordable *et al.* (2009), ainda observaram nas raízes parasitadas, células gigantes em diferentes etapas de desenvolvimento: inicial, diferenciada e não funcional. Segundo os autores, os sítios de alimentação estavam imersos no xilema, causando a redução do mesmo e do cambio vascular, e, a formação de fêmeas e de massas de ovos caracterizou o ciclo completo do nematoide.

Segundo Roberts (2002) a resistência de plantas a patógenos é relatada como um modo de herança que pode ser expressa por monogênica, oligogênica ou poligênica, podendo ser definida de acordo com a soma dos efeitos fenotípicos expressos por genes importantes ou por genes menos importantes. O presente trabalho sugere que genes de resistência estão atuando no porta-enxerto de videira resistente a *M. ethiopica*, podendo ser de ação inicial, ligado à reação de hipersensibilidade ou ligado à degeneração dos J3/J4 e à má formação das células gigantes. Pesquisas adicionais devem ser realizadas para entender mais profundamente os mecanismos de defesa identificados nesse trabalho, identificando os genes envolvidos. Essas investigações também devem se estender a outros porta-enxertos resistentes, bem como a outras espécies de *Meloidogyne*, presente em pomares de videira. Além disso, a realização de estudos bioquímicos complementares por meio de análise de compostos fenólicos em porta-enxertos resistentes e suscetíveis pode ajudar no entendimento do processo de resistência de porta-enxertos de videira ao nematóide das galhas.

4.4 Conclusões

A eclosão de Juvenis de segundo estadio de *M. ethiopica* é afetada pela temperatura;

No porta-enxerto de videira suscetível 'Ripária do Traviú 106-8', *M. ethiopica* completa o ciclo de vida aos 27 dias da inoculação a 26°C;

A resistência de '1103 Paulsen' a *M. ethiopica* está associada a dois mecanismos de resistência pós-infectivos, caracterizados por uma resposta de hipersensibilidade aos 6-15DAI, que aparentemente são responsáveis por bloquear o desenvolvimento do nematoide e ou pela formação de células gigantes degeneradas;

Há uma relação entre a reação de hipersensibilidade e a formação de compostos fenólicos em raízes de porta-enxerto resistente de videira parasitadas por *M. ethiopica*;

Conclusões Gerais

Diferentes espécies de nematoides do gênero *Meloidogyne* parasitam porta-enxertos e cultivares copa de videira;

Há resistência diferenciada de porta-enxertos de videira tropicais e de clima temperado a *M. javanica*, *M. incognita*, *M. arenaria* e *M. enterolobii*;

Diferentes mecanismos de resistência atuam na infecção ocasionada por *M. ethiopica* em porta-enxerto resistente.

Estudos relacionados à agressividade de populações de *Meloidogyne* spp. em porta-enxerto e cultivares de videira, necessitam ser melhor aprofundados, para se estabelecer uma relação com o nível de dano nos respectivos genótipos.

Referências

- ABALLAY, E.; BAETTIG, R. Y.; VIEIRA, A. Evaluación de la tolerancia de ocho portainjertos de vid al nemátodo del nódulo de la raíz (*Meloidogyne spp.*). **Aconex**, v.56, p.15-21, 1997.
- ABALLAY, E.; PERSSON, P.; MÅRTENSSON, A. plant-parasitic nematodes in chilean vineyards. **Nematropica**, v.39, n.1, p.23-27, 2009.
- AJANG, Sone Norbert Nleh. Resistance of carrot cultivars to *Meloidogyne chitwoodi*. **Nematology**, v.12, n.1, p.1-30, 2010.
- ALMEIDA, E. J.; SOARES, P. L. M.; SANTOS, J. M.; MARTINS, A. B. G. Estudo da resistencia de araçás (*Psidium spp.*) (*Mirtaceae*) a *Meloidogyne mayaguensis* em casa de vegetacao. XXVI CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, Campos dos Goyatacazes. Resumos, **Nematologia Brasileira**, v.30, n.1, p.118-119, 2006.
- ALMEIDA, Vicente Ferreira de. Nematoides em frutíferas. In: Nematoides: o inimigo oculto da agricultura. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.16, n.172, p.65-72, 1992.
- AMBROGIONI, L.; D'ERRICO, F. P.; PALMISANO, A. M.; TALAME', M. Nematodi Criconematidae dei vigneti italiani. **Atti Giornate Nematologiche**, Ascoli, Piceno, Italy, p.46–57, 1980.
- ANAWAR, S. A.; MCKENRY, M. V. Development response of a resistance-breaking population of *Meloidogyne arenaria* on *Vitis* spp. **Journal of Nematology**, v.34, n.1, p.28-33, 2002.
- ANAWAR, S. A.; MCKENRY, M. V. Penetration, development and reproduction of *Meloidogyne arenaria* on two new resistant *Vitis* spp. **Nematropica**, v.30, n.1, p.9-17, 2000.
- ANAWAR, S. A.; MCKENRY, M. V.; FADDOUL, J. Reproductive variability of field populations of *Meloidogyne* spp. on grape rootstocks. **Journal of Nematology**, v.32, n.3, p.265-270, 1999.

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

BAJA, J. K. L.; MAHAJAN, R. Phenolic compounds in tomato susceptible and resistant to *Meloidogyne incognita* (Kofoid et White) Chitwod, 1977. In: BAJAJ, K. L.; ARORA, Y. K.; MAHAJAN, R. Biochemical differences in tomato cultivars resistant and susceptible to *Meloidogyne incognita*. **Revue Nématologie**, v.6, n.1, p.143-154, 1983.

BERGE, J. B.; DALMASSO, A.; RITTER, M. Influence de la nature de l'hôte sur le développement et le déterminisme du sexe du nématode phytoparasite *M. hapla*. **Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture de France**, v.60, p.946-952, 1974.

BIRD, ALAN F. Influence of temperature on embryogenesis in *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, Raleigh, v.4, n.3, p.206-213, 1972.

BLEVE-ZACCHEO, T.; BONGIOVANNI, M.; MELILLO, M. T.; CASTAGNONE-SERENO, P. The pepper resistance genes *Me1* et *Me3* induce differential penetration rates and temporal sequences of root cell ultra-structural changes upon nematode infection. **Plant Science**, v.133, p.79-90, 1998.

BOTTON, M.; SORIA, S. de J.; HICKEL, E. R. Manejo de pragas na cultura da videira: *Filoxera Daktulosphaira vitifoliae* (Fitch, 1856) (Hemiptera: Phylloxeridae). In: **Capacitação técnica em viticultura. Embrapa Uva e Vinho**. 2008. Disponível em: <http://scarlet.cnpuv.embrapa.br/viticultura/filoxera.html>. Acesso em 12-07-2011

BOUBALS, Denis. Au sujet de la résistance à l'anguillule de la vigne. **Le Progrès Agricole et Viticole** Année 109, p.118, 1992.

BOUBALS, Denis. Situation des porte-greffes résistants aux nématodes ravageurs directs. **Bulletin de l'OIV**, n.52, p.263-271, 1979.

BRINKMAN, H.; MULDER, A. Stem and bulb nematode. In: ASSCHEMAN, E.; BOKX, J.A.; BRINKMAN, H.; BUS, C.B.; VAN DELFT, M.; HOTSMA, P.H.; MEIJERS, C. P.; MULDER, A.; SCOLTE, Y.; TURKENSTEEN, L. J.; WUSTMAN, R.; Van Der ZAAG, D. E. (Ed.). **Potato diseases, pest and defcts**. Holland: NIVAA, 1996. 180p.

BROWN, D. J.; DALMASSO, A.; TRUDGILL, D. L. Nematode pests of soft fruits and vines. In: Evans, K.; Trudgill, D. L.; Webster, J. M. *Plant-Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture*. eds. **CAB International**, Wallingford, UK. P.427-462, 1993.

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

CAMARGO, Umberto Almeida. Cultivares para a viticultura tropical do Brasil. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, MG, v.19, n.194, p. 15-19, 1998.

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

CAMARGO, U. A., NACHTIGAL, J. C. Cultivares. In: NACHTIGAL, J. C., SCHNEIDER, E. P. **Recomendações para produção de videiras em sistemas de base ecológica**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, Documentos, p. 11-16, 2007.

CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G. Sistema de Produção de Uvas Rústicas para Processamento em Regiões Tropicais do Brasil. Embrapa Uva e Vinho. **Sistemas de Produção**, 9, ISSN 1678-8761 Versão Eletrônica, Dez./2005

CAMPOS, H. D.; CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A. Efeito da temperatura na multiplicação celular, no desenvolvimento embrionário e na eclosão de juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne javanica*. **Summa phytopathologica**, v.32, n.1, p.29-33, 2008.

CAMPOS, V. P.; MAXIMINIANO, C. FERREIRA, E. A. Uva para processamento: Fitossanidade. **Frutas do Brasil**. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves-RS. Brasília: EMBRAPA, 2003.

CARNEIRO, R. M. D. G.; GOMES, C. B.; ALMEIDA, M. R.; GOMES, A. C. C.; MARTINS, I, Primeiro registro de *Meloidogyne ethiopica* Whitehed, 1968 em plantas quivi no Brasil e reação em diferentes plantas hospedeiras. **Rev. Nematologia Brasileira**, v.27, n.2, p. 152-158, 2003.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; COFCEWICZ, E. T.; MAGUNACELAYA, J. C.; ABALLAY, E. *Meloidogyne ethiopica*, a major root-knot nematode parasitising *Vitis vinifera* and other crops in Chile. **Nematology**, vol. 9, n.5, p.635-641, 2007.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CARNEIRO, R. G.; NEVES, D. I.; ALMEIDA, M. R. A. Nova raça de *Meloidogyne javanica* detectada em *Arachis pintoii* no Estado do Paraná. **Nematologia Brasileira**, v.27, n.2, p.219-221, 2003.

CARNEIRO, R. M. D. G.; NEVES, D.I.; FALCÃO, R.; PAES, N. S.; CIA, E.; SÁ, M. F. G. Resistência de genótipos de algodoeiro a *Meloidogyne incognita* raça 3: Reprodução e histopatologia. **Nematologia Brasileira**, v.29, n.1, p.1-10, 2005b.

CARNEIRO, R. M. D. G.; RANDIG, O.; ALMEIDA, M. R. A.; GONÇALVES, W. Identification and characterization of *Meloidogyne* species on coffee from São Paulo and Minas Gerais states of Brazil using esterase phenotypes and SCAR-PCR multiplex. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n.2, p.233-242, 2005a.

CARNEIRO, R. M. D; ALMEIDA, M. R. A.; GUEDES, A. C. Detecção de *Meloidogyne ethiopica* e *M. javanica* em yacon no distrito federal. In: XXXVII Congresso Brasileiro de Fitopatologia (resumo). **Revista fitopatologia Brasileira**, v.29, n.4, p.82, Ago, 2004.

CARNEIRO, R. M. D.; SANTOS, M. F. A. dos, ALMEIDA, M. R. A., MOTA, F. C., GOMES, A. C. M. M., TIGANO, M. S. Diversity of *Meloidogyne arenaria* using morphological, cytological and molecular approaches. **Nematology**, v.10, n.6, p.819-834, 2008.

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

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, A. R. A.; CARNEIRO, R. G. Enzyme phenotypes of Brazilian isolates of *Meloidogyne* spp. **Fundamental and applied Nematology**, v.19, n.3, p.555-560, 1996.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CASTAGNONE-SERENO, P.; DICKSON, D. W. Variability among isolates of *Meloidogyne javanica* of Brazil. **Fundamental and applied Nematology**, v.21, n.2, p.319-326, 1998.

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

CASTRO, J. M. C.; LIMA, R.; CARNEIRO, R. M. D. C. Variabilidade isoenzimática de populações de *Meloidogyne* spp. proveniente de regiões brasileiras produtoras de soja. **Nematologia Brasileira**, v.27, n.3, p.1-12. 2003.

CHANG, L. M. The repellent effect of necrotic tissue on the nematode, *Pratylenchus penetrans* (Cobb, 1917) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941. In: KAPLAN, D. T.; KEEN, N. T. Mechanisms conferring plant incompatibility to nematodes. **Revue Nématologie**, v.3, n.1, p.123-134, 1969.

CHITWOOD, Benjamin Goodwin. Root-knot nematodes. In : A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 19887. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**. V.16, n.90-104, 1949.

COFCEWICZ, E. T.; CARNEIRO, R. M. D. G.; RANDIG, O.; CHABRIER, C.; QUÉNÉHERVÉ, P. Diversity of *Meloidogyne* spp. on *Musa* in Martinique, Guadeloupe and French Guiana. **Journal of Nematology**, v.37, n.3, p.313-322, 2005.

COFCEWICZ, E. T.; CARNEIRO, R. M.D.G.; CASTAGNONE-SERENO, P.; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotypes and genetic diversity of root-knot nematodes parasitising *Musa* in Brazil. **Nematology**, v.6, n.1, p.85-95, 2004.

COIRO, M. I.; TAYLOR C.E.; BORGIO M.; LAMBERTI F. Resistance of grapevine rootstocks to *Xiphinema index*. **Nematologia Mediterranea**, v.18, n.2, p.119-121, 1990.

CURI, S. M.; SILVEIRA, S. G. P.; PRATES, H. S.; FOSSA, E. Resultados parciais de levantamento de ocorrência de ematoídes na cultura da videira no estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Campinas-SP, v.14, n.1/2, p.48, 1998.

DALMASSO, A; BERGÉ, J.B. Molecular polymorphism and phylogenetic relationship in some *Meloidogyne* spp.: Application to the taxonomy of *Meloidogyne*. **Journal of Nematology**, v.10, n.4, p.323–332, 1978.

DE LEY, P.; BLAXTER, M. L. Systematic position and phylogeny. In: LEE, D.L. (ed.) **The Biology of Nematodes**. Taylor and Francis, London: p.1-30. 2002.

DROPKIN, V. H.; HELGESON, J. P.; UPPER, C. D. The hypersensitivity reaction of tomatoes resistant to *Meloidogyne incognita*: reversal by cytokinins. **Journal of Nematology**, v.1, n.1, p.55-61, 1969.

EISENBACK, J. D., HIRSCHMANN, H. Morphological comparison of *Meloidogyne* males by scanning electron microscopy. **Journal of Nematology**, v.12, n.1, p.23-32, 1980.

EISENBACK, J. D., HIRSCHMANN, H. Morphological comparison of second-stage juveniles of several *Meloidogyne* species (root-knot nematodes) by scanning electron microscopy. **Scanning Electron microsc.** III. p.223-230, 1979.

EISENBACK, J. D., HIRSCHMANN, H., TRIANTAPHYLLOU, A. C. Morphological comparison of *Meloidogyne* female head structures, perineal patterns, and stylets. **Journal of Nematology**, v.12, n.4, p.300-313, 1980.

EISENBACK, J. D.; TRIANTAPHYLLOU, H. H. Root-Knot nematode: *Meloidogyne* sp. And races. In: NICKLE, W. R. (Ed) **Manual of agricultural nematology**. New York. p.191-274, 1991.

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.

ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Use of enzyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, v.17, n.1, p.6–20, 1985.

EVANS, Adrian. Diapause in nematodes as a survival strategy. In: VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. **Vistas on nematology**. Hyattsville: Society of Nematologists, p.180-187, 1987.

FERRAZ, Luiz Carlos Barbosa. As meloidoginoses da soja: passado, presente e futuro. In: SILVA, J. F. V. (Org.). **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina: EMBRAPA Soja; Sociedade Brasileira de Nematologia, cap. 1, p.15-38, 2001.

FERRAZ, F.; MENDES, M. de L. O nematóide das galhas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.16, n.172, p.43-45, 1992.

FERRIS, H.; VAN GOOD, S. D. *Meloidogyne* ecology and host interrelationships, p.205-230. In: LAMBERTI, F.; TAYLOR, C. E. **Root-knot, nematodes (*Meloidogyne* species) systematic, biology and control**. Academic Press, New York, 477p., 1979.

FRAGOSO, R. da R.; LOURENÇO, I. T.; VIANA, A. A. B.; et al. **Interação molecular planta-nematoide**. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2007 (Documentos/Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111; 198).

GHANNAM, A.; JACQUES, A.; DE RUFFRAY, P.; BAILLIEUL, F.; KAUFFMANN, S. Identification of tobacco ESTs with a hypersensitive response (HR)-specific pattern of expression and likely involved in the induction of the HR and/or localized acquired resistance (LAR). **Plant Physiology and Biochemistry**, v.43, p.249-259, 2005.

GIEBEL, John. Mechanism of resistance to plant nematodes. **Annual Review Phytopathology**, v.20, p.257-279, 1982.

GIEBEL, John. Phenolic content in roots of some Solanaceae and its influence on IAA-oxidase activity as an indicator of resistance to *Heterodera rostochiensis*. **Nematologica**, v.16, p.22-32, 1970.

GOMES C. B.; COUTO, M.; CARNEIRO, R. M. D. G. Registro de Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em Goiabeira (*Psidium guajava* L.) e Fumo (*Nicotiana tabacum* L.) no Sul do Brasil. **Nematologia Brasileira**, v.32, n.3, p.244-247, 2008.

GOMES, A. C. M. M.; NICOLE, M.; MATTOS, J. K.; PEREIRA, S. I. V.; PEREIRA, P.; SILVA, D. B.; VIEIRA, R.; CAPDEVILLE, G. DE; MOITA, A. W. ; CARNEIRO, R. M. D. G. Concentration of β -ecdysone (20E) in susceptible and resistant accessions of *Pfaffia glomerata* infected with *Meloidogyne incognita* and histological characterisation of resistance . **Nematology**, Leiden, v. 12, n. 5, p. 701-709, 2010.

GOMES, CESAR BAUER. Problemas nematológicos associados a videira. In: **XXIV Congresso Brasileiro de Nematologia. Anais...** Petrolina-PE, p.26-30, 2003.

GOMES, C. B., SONEGO, O., LIMA, D. L. Identificação de espécies de nematoides de galha associadas a videira (*Vitis* sp.) em diferentes regiões do Brasil.). **XXV Congresso Brasileiro de Nematologia. Anais...** Piracicaba-SP, p. 87, 2005.

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

GOMES, C. B.; CARBONARI, J. J.; MEDINA, I. L.; LIMA, D. L. Levantamento de *Meloidogyne ethiopica* em viveiros de quivi no Rio Grande do Sul e registro da ocorrência em fumo (*Nicotiana tabacum*) e guanxuma (*Sida rhombifolia*). **XXV Congresso Brasileiro de Nematologia**. Piracicaba-SP, p.69, 2005.

GOMES, C. B.; SONEGO, O. R.; CAMPOS, A. D.; ALMEIDA, M. R. A. Levantamento da nematofauna associada à rizosfera de videiras (*Vitis* spp.)na serra gaúcha. In:

Congresso Brasileiro de Nematologia, 23. 2001, Marília. **Anais...** Marília: SBN, 2001, p.106

GOMES, Ana Cristina Meneses Mendes. **Resistência e caracterização histológica de *Pfaffia glomerata* a *Meloidogyne incognita***. 2006, 58p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, DF.

GUTIÉRREZ-GUTIÉRREZ, C.; PALOMARES-RIUS, J. E.; JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M.; CASTILLO, P. Host suitability of *Vitis* rootstocks to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) and the dagger nematode *Xiphinema index*, and plant damage caused by infections. **Plant Pathology**, v.60, n.3, p.575-585, 2011.

HARTMANN, K. M.; SASSER, J. N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal patterns morphology. In: BARKER, K. R.; CC. CARTER; SASSER, J. N. (Eds). **An advanced treatise on *Meloidogyne***, v.2. **Methodology**. North Carolina State University Graphics, Raleigh, p.69-77, 1985.

HERNANDES, J. L.; MARTINS, F. P.; Pedro Júnior, M. J. **Uso de porta-enxertos – Tecnologia simples e fundamental na cultura da videira**. 2010. Disponível em: www.infobibos.com/Artigos/2010_2/PortaEnxertos/index.htm. Acesso em: 17-07-11

HUANG, S. P.; DELLA VECCHIA, P. T.; FERREIRA, P. E. Varietal response and estimates of heritability of resistance to *Meloidogyne javanica* in carrots. **Journal of Nematology**, v.18, n.4, p.496-501, 1986.

HUANG, Jeng-sheng. Formation, anatomy and physiology of giant cells induced by root-knot nematodes. In: SASSER; C.C CARTER **An Advanced Treatise on *Meloidogyne*, Vol.I Biology and Control**. North Caroline State University. Raleigh, North Caroline, p.155-164, 1985.

HUSSEY, Richard S. Host-parasite relationships and associated physiological changes. In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. (eds) An advanced treatise on *Meloidogyne*, Vol.I. **Biology and Control**. North Caroline State University. Raleigh, North Caroline, p.143-153, 1985.

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

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.. Disponível em: www.ibge.gov. 2010.

KANYAGIA, Samuel Thige. Nematodes found associated with grapevines and areas of their distribution in Kenya. **Acta Horticultural**. Nacional Horticultural Research Station. v. 218, p.295-298, 1988.

KAPLAN, D. T.; DAVIS, E. L. Mechanisms of plant incompatibility with nematodes. In: VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. (eds). **Vistas on Nematology**. E.O Painter, Florida, p.267-276, 1987.

KARSSSEN, G.; MOENS, M. Root-Knot Nematodes In: PERRY, R. N.; MOENS, M.(Eds) **Plant Nematology**, Cambridge, USA, CABI North American Office, p.60-90, 2006.

LAVERGNE, Guy. Na *Anguillula* in South America. **Revista Chilena de Historia Natural**, v.5, p.85-91, 1901.

LEE, D. L.; ATKINSON, H. J. **Physiology of nematode**. New Work: Columbia University, p.215, 1977.

LIMA, M. F.; LOPES, D. B.; TAVARES, S. C. C. H.; TESSMAN, D. J.; MELO, N. F. Doenças causadas e alternativas de controle. In: SOARES, J. M.; LEÃO, P. C. S. **A vitivinicultura no semiárido Brasileiro**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Petrolina: Embrapa Semiárido, cap.13, p. 543-595, 2009.

LORDELLO, R. R. A.; LORDELLO, A. I. L. Doenças e nematoides In: POMMER, C. V. **Uva: Tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, p.568-596, 2003.

LOUBSER, Jober T. Evaluation of nematode problems in grapevines. **Viticultural and Oenological Research Institute**, Stellenbosch, South Africa: v.39, p.24-28, 1989.

LOUBSER, Jober T., MEYER., A. J. Resistance of Grapevine rootstocks to *Meloidogyne incognita* under field conditions. **South African Journal of Enology and Viticulture**, n.8, v.2, p.70-74, 1987.

MACARON, Josué. Étude de la résistance de deux variétés de tomate aux *Meloidogyne* spp. et au *Phytophthora parasitica* In: KAPLAN, D. T. ; KEEN, N. T. Mechanisms conferring plant incompatibility to nematodes. **Revue Nématologie**, v.3, n.1, p.123-134, 1975.

MAGGENTI, Armand. **General Nematology**. New York: Springer-Verlag, 1981.

MAGUNACELAYA, Juan. Carlos. *Meloidogyne ethiopica* y el cultivo de la vid em Chile. In: **XXV Congresso Brasileiro de Nematologia**. Piracicaba-SP, p.33, 2005.

MAXIMIANO, C.; SILVA, T. G.; SOUZA, C. R.; FERREIRA, G. E.; REGINA, M. A; CAMPOS, V. P. Nematodes and Pausteuria spp. in association with temperate fruit trees in the South of Minas Gerais State, Brasil. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, p.1-10, 1999.

McKenry, M. V.; Kretsch, J. O.; Anwar, S. A. Interactions of selected *Vitis* cultivars with endoparasitic nematodes. **American Society for Enology and Viticulture**, v.52, n.4, p.310-316, 2001.

MEDINA, I. L. GOMES, C. B.; ROSSI, C.; CARNEIRO, R. M. D. G. Caracterização de Populações de *Meloidogyne* spp. Provenientes de Figueira do Rio Grande do Sul e de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, BRasília-DF, v. 30, p. 179-187, 2006.

MELLO, Loiva Maria Ribeiro de. **Vitivinicultura brasileira: panorama 2009**. Portal Dia de Campo, 2010 (Artigo). Disponível em:
<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/autor-l.html#loiva>, acesso em: 29-03-2011.

MILNE, D. L.; PLESSIS, Du, D. P. Development of *Meloidogyne javanica* (Treb) Chitwood on tobacco under fluctuating soil temperature. *South African Journal of Agriculture Science*, v.7, p.673-680, 1964.

MOREIRA, W. A.; MAGALHAES, E. E.; MOURA, A. O. S.; PEREIRA, A. V. S. LOPES, D. B.; BARBOSA, F. R. Espécies de nematoides das galhas associadas a culturas do Submedio São Francisco. XXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, Petrolina. **Resumos**, v.27, n.2, p.256-257, 2003b.

MOREIRA, W. A.; MAGALHAES, E. E.; MOURA, A. O. S.; PEREIRA, A. V. S. LOPES, D. B.; BARBOSA, F. R. Nematoides associados a goiabeira no vale do submedio São Francisco. XXIV Congresso Brasileiro de Nematologia, Petrolina, **Resumos**, Nematologia Brasileira, v.27, n.2, p.256-257, 2003a.

MOREIRA, W. A.; LIMA, M. F. Uva de mesa: Fitossanidade. **Frutas do Brasil**. Embrapa Semi-Árido, Petrolina, PE, 2002.

MOTA, Fabiane de Castro. **Análise de fontes de resistência do algodoeiro a *Meloidogyne incognita* raça 3 e caracterização histopatológica da interação planta-nematoide**. 2010, 83p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia), Universidade de Brasília. Brasília, DF.

NAVES, R. de L., CASTRO, J. M. C., DUTRA, M. R., BOTTON, M. R., CAMPOS, V. P. Espécies de *Meloidogyne* associadas à rizosfera de videira na Serra Gaúcha. XXV Congresso Brasileiro de Nematologia. Piracicaba-SP. **Anais...**, p. 69, 2005.

NAVES, Rosemeire de Lellis; **Diagnose e manejo de doenças causadas por fitonematóides na cultura da videira**. Embrapa uva e vinho, Bento Gonçalves, RS, Dez. 2005. (circular técnica)

NAVES, R. de L.; DUTRA, M. R.; CASTRO, J. M.; BOTTON, M. Fitonematoides associados à rizosfera de videiras com sintomas de declínio em municípios da Serra Gaúcha. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 18, 2004. Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SBF, 2004 1 CD-ROM.

NIBLACK, T. L.; HUSSEY, R. S.; BOERMA, H. R. Effects of environments, *Meloidogyne incognita* inoculum levels, and *Glycine max* genotypes on root-knot nematode soybean interactions in field microplots. **Journal of Nematology**, v.18, n.3, p.338-346, 1986.

NICOL, J. M.; STIRLING, G. R.; ROSE, B. J.; MAY, P. VAN 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.

NOGUEIRA, Domingos José Pardal. Porta-enxerto de videira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.10, n.117, p.22-24, 1984.

OLIVEIRA, R. D. L.; SILVA, M. B.; AGUIAR, N. D. C.; BÉRGAMO, F. L. K.; COSTA, A. S. V.; PREZOTTI, L. Nematofauna associada à cultura do quiabo na região leste de Minas Gerais. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n.1, p. 88-93. 2007.

OOSTENBRINK, Michiel. **Major characteristics of the relation between nematodes and plants**. Mendeligen Landbouwhogeschool Wageningen, v.6, p.1-46, 1966.

PEGARD, A.; BRIZZARD, G.; FAZARI, A.; SOUCAZE, O.; ABAD, P.; DJAN-CAPAROLINO, C. Histological Characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annuum*. **Phytopathology** v.95, n.2, p.158-165, 2005.

PINKERTON, J. N., T. A. FORGE, K. L. IVORS, AND R. E. INGHAM. 1999. Distribution of plant-parasitic nematodes in Oregon vineyards. **Journal of Nematology**, n.31, p. 624–634, 1999.

PINOCHET, J.; VERDEJO, S.; SOLER, A.; CANAL, J. Host range of a population of *Pratylenchus vulnus* in comercial fruit, nut, citrus, and grape rootstocks in Spain. **Journal of Nematology**, v.24, n.4, p.51-54, 1982

POMMER, Celso Valdevino. **Uva: Tecnologia de produção, Póscolheita, Mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003, 778p.

PROITE, K.; CARNEIRO, R.; FALCAO, R. GOMES, A.; LEAL-BERTIOLI, S.; GUIMARAES, P.; BERTIOLI, D. Post-infection development and histopathology of *Meloidogyne arenaria* race 1 on *Arachis* spp. **Plant Pathology**, v.57, n.5, p.974-980, 2008.

RAMMAH, A.; HIRSCHMANN, H. *Meloidogyne morocciensis* n. sp. (Meloidogyninae), a Root-knot Nematode from Morocco. **Journal of Nematology**, v. 22, n.3, p.279-291, 1990.

RASKI, Dewey. J. Nematodes parasites of grapes. In: PERSON, R. C.; GOHENN, A. **Compendium of grape diseases**. Americam Phytopathological Societ. St Paul, p.55-59 1994.

RASKI, D. J.; KRUSBERG, L. R. Nematode parasites of grapes and other smail fruits. In: NICKLE, W. R. (ed.) **Plant and insect nematodes**. New York: Marcel Dekker, cap.13, p.457-507, 1984.

ROBERTS, Philip A. Concepts and consequences of resistance. In: STARR, J. L.; COOK, T.; BRIDGE, J. **Plant resistance to parasitic nematodes**. (eds.) CABI International. UK. Chapter 1, p.1-22, 2002.

ROBERTS, P. A.; MATTHEWS, W. C.; VEREMIS, J. C. Genetic mechanisms of hostplant resistance to nematodes. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.;

WINDHAM, G. L. **Plant and nematode interactions**. Madison, USA: American Society of Agronomy, p.209-238, 1998.

RODRIGUES, A. C. F. O.; ABRANTES, I. M. O.; MELILLO, M. T.; BLEVE-ZACHEO, T. Ultrastructural Response Of Coffee Roots To Root-Knot Nematodes, *Meloidogyne Exigua* and *M. Megadora*. **Nematropica**, v.30, n.2, p.201-210, 2000.

SASSER, Joseph Neal. **Plant parasitic nematodes: the farmer's hidden enemy**. Departamento de Plant Pathology and Consortium of International Crop Protection, North Caroline State University, Raleigh. 115p, 1989.

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

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, p.507-512, 1974.

SILVA, Adriana Rodrigues da. **Fitonematóides na cultura da batata: reação de genótipos a *Meloidogyne* spp., distribuição de espécies e caracterização dos sintomas**. 2009. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. São Paulo.

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

SIRCA, S.; UREK. G.; KARSSSEN, G. First report of the roo-knot nematode *Meloidogyne ethiopica* in Europe. **Plant Disease**, n.88, p.680, 2004.

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

SOMAVILLA, Lúcia. **Levantamento e caracterização do nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp) em *Actinidia deliciosa* (Chevalier) Liang & Ferguson) no Rio Grande do Sul e reação de *Nicotiana tabacum* L. e espécies frutíferas a *Meloidogyne ethiopica* Whitehead 1968**. 2008, 78f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) Universidade Federal de Pelotas. Pelotas-RS.

SOMAVILLA, L.; GOMES, C. B.; NAVES, R. L. Reação de porta-enxertos de videira a *Meloidogyne ethiopica* Whitehead. In: 41º CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 2008, Belo Horizonte. Anais... Sociedade Brasileira de Fitopatologia, v.33, 2008.

SOMAVILLA, L.; GOMES, C. B.; CARBONARI, J. J.; CARNEIRO, R. M. D. G. Levantamento e caracterização de espécies do nematoide das galhas Em quivi no Rio Grande do Sul, Brasil. **Tropical plant pathology**, v.36, n.2, p.89-94, 2011.

SPERANDIO, Cesar Antonio. **Identificação de nematoides fitoparasitos do Rio Grande do Sul – Brasil**. 1992, 121p. Tese (Doutorado em Agronomia-Fitopatologia)

– Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz, Piracicaba.

STRAJNAR, P.; ŠIRCA, S.; KNAPIČ, M.; UREK, G. Effect of Slovenian climatic conditions on the development and survival of the root-knot nematode *Meloidogyne ethiopica*. **European Journal of Plant Pathology** Jan, v.129, n.1, p:81-88, 2011.

TAYLOR, A. L.; SASSER J. N. **Biology, identification and control of root-knot nemathodes (*Meloidogyne* species)**. North Carolina State University, Raleigh, North Carolina. pp. 111. 1978.

TÉLIS, D.; LANDA, B. B.; RAPOPORT, H. F.; CAMACHO, F. P.; JIMENEZ-DIAS, R.; CASTILLO, P. Plant-Parasitic Nematodes Infecting Grapevine in Southern Spain and Susceptible Reaction to Root-Knot Nematodes of Rootstocks Reported as Moderately Resistant. **Plant Disease**, v.91, n.9, September, p.1147-1154, 2007.

TOMASZEWSKI, E. K.; KHALIL, M. A. M.; EI-DEEB, A. A.; POWERS, T. O.; STARR, J. L. *Meloidogyne javanica* parasitic on peanut. **Journal of Nematology**, v. 26, n. 4, p. 436-441. 1994.

TORDABLE, M.; LAX, P.; DOUCET, M. E.; MAGUNACELAYA, J. C. Análisis histopatológico de raíces de vitis vinifera cultivar Cabernet sauvignon infectadas por *Meloidogyne ethiopica*, Chile. XXVIII Congresso Brasileiro de Nematologia II Congresso Internacional de Nematologia Tropical. Maceió, 2009. Anais... **Nematologia Brasileira**, v.33, n.4, 2009.

TORRES, G. R. C.; SALES-JUNIOR, R.; NERIVANIA, V.; REHN, C. PEDROSA, E. R. MOURA, M. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado do Ceará. **Nematologia Brasileira**, v.29, n.1, p.105-107, 2005.

URIS, Joe O. Nematodes. In: España. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Dirección general de la producción agrária. Subdirección General de Sanidad Vegetal (MAdri). **Los parásitos de la vid: estrategia de lucho**. Madri, p.125-128, 1986.

VASTONE, V.; LANTZKE, N. **Nematodes in Western Australian vineyards**. Department of Agriculture Western Australia, South Perth. Bulletin 4667, p.1-12, 2006.

WALKER, G.; COX, C. **Root Knot Nematodes: A root-knot nematode factsheet for growers in South Australia**. Disponível em: <http://www.phylloxera.com.au>. Acesso em 15-07-11.

WALLACE, Henry Robert. Abiotic influences in the soil environment. In: ZUCKERMAN, R.M. **Plants Parasitic Nematodes**. New York: Academic Press, v.1, p. 257-80, 1971.

WOLPERT, J. A.; WALKER, M. A.; WEBER, E. Proceedings Roostock Seminar: A worldwide perspective. **American society for Enology and Viticulture**, Reno, Nevada. 84p, 1992.

ANEXO 1

Quadro 1: Pomares de videira coletados nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina e as espécies de *Meloidogyne* encontradas.

Amostra	Procedência (municípios-RS)	Porta-enxerto/ Cultivar	Espécie/Fenótipo Est.
1	Pelotas 1	Cabernet S.*	<i>M. arenaria</i> A2
2	Pelotas 2	-	ND
3	Pelotas 3	<i>Vitis</i> spp.	<i>M. javanica</i>
4	Pelotas 4	Bordô*	<i>M. javanica</i>
5	Pelotas 5	Concord*	<i>M. javanica</i> <i>M. arenaria</i>
6	Pelotas 6	Niágara Rosa*	<i>M. javanica</i>
7	Pelotas 7	Isabel*	ND
8	Uruguaiana 1	SO4**	<i>M. javanica</i>
9	Uruguaiana 2	SO4**	<i>M. javanica</i> J2
10	Uruguaiana 3	Paulsen**	<i>M. javanica</i>
11	Quaraí 1	Paulsen**	<i>M. javanica</i>
12	Quaraí 2	SO4**	ND
13	Quaraí 3	SO4**	<i>M. morocciensis</i>
14	S.Livramento 1.1	SO4**	<i>M. javanica</i>
15	S.Livramento 1.2	SO4**	<i>M. javanica</i>
16	S.Livramento 2.1	1103 Paulsen**	<i>M. arenaria</i>
17	S.Livramento 2.2	SO4**	<i>M. arenaria</i>
18	S.Livramento 3	-	<i>M. javanica</i> <i>M. arenaria</i>
19	D. Pedrito 1	Cabernet*	<i>M. javanica</i> <i>M. morocciensis</i>
20	D. Pedrito 2	SO4**	<i>M. javanica</i>
21	D. Pedrito 3	SO4**	<i>M. inconita</i> <i>M. javanica</i>
22	Bagé 1	SO4**	ND
23	Bagé 2	Malbec*	<i>M. incognita</i>
24	Bagé 3	Cabernet*	ND
25	Bagé 4	Paulsen**	<i>M. javanica</i>
26	Hulha negra	Paulsen**	<i>M. incognita</i>
27	Candiota 1	Aragonis*	ND
28	Candiota 2	R99**	<i>M. incognita</i> <i>M. javanica</i>
29	Candiota 3	3309**	<i>M. incognita</i>
30	B. Gonçalves 1	Isabel*/Paulsen**	ND
31	B. Gonçalves 2	Paulsen**	ND
32	B. Gonçalves 3	Paulsen*	<i>M. javanica</i>
33	B. Gonçalves 4	Niágara Rosa*	<i>M. arenaria</i>
34	B. Gonçalves 5	Couder*	ND
35	B. Gonçalves 6	Bordô*	ND
36	Monte Belo do sul 1	Paulsen**	ND
37	Monte Belo do sul 1.1	Herbemont*	ND
38	Monte Belo do sul 2	Selblanc*	ND
39	Monte Belo do sul 2.1	Paulsen**	ND
40	Monte Belo do sul 3	Pé franco sem ident.	ND
41	Farroupilha 1	Cabernet*/Paulsen**	ND

42	Farroupilha 2	Isabel*	ND
43	Farroupilha 3	Isabel*	<i>M. javanica</i>
44	Farroupilha 4	Niágara rosada*	ND
45	Flores da Cunha 1	Mistura não ident.	ND
46	F. da Cunha 2	Isabel*	ND
47	F. da Cunha 3	Não ident.	ND
48	F. da Cunha 4	-	ND
49	F. westphalen	Concord*	<i>M. javanica</i>
50	Alpestre	Paulsen**	<i>M. javanica</i>
51	Planalto	Paulsen**	<i>M. javanica</i> J2
52	Pinhal Grande	Isabel*	<i>M. javanica</i>
53	Antonio Prado 1	Isabel*	<i>M. javanica</i>
54	Antonio Prado 2	Paulsen**	<i>M. javanica</i>
55	Antonio Prado 3	Isabel	<i>M. javanica</i>
56	Camp. Serra 1	Bordô*	<i>M. javanica</i>
57	Camp. Serra 2	Bordô*	<i>M. arenaria</i>
58	Campestre da Serra 3	Bordô*	ND
59	Caxias do sul 1	Paulsen**	<i>M. javanica</i>
60	Caxias do Sul 2	Bordô*	<i>M. javanica</i>
61	Caxias do sul 3	Niágara Rosa*	<i>M. javanica</i> <i>M. morocciensis</i>
62	Pinheiro Machado 1.1	K5BB**	<i>M. javanica</i>
63	Pinheiro Machado 1	K5BB**	ND
64	Pinheiro Machado 2	Merlot*/SO4**	ND
65	Pinheiro Machado 3	SO4**	ND
66	São João do Polêsini	Paulsen**	ND
67	São Marcos 1	Isabel*	ND
68	São Marcos 2	Isabel*	ND
69	São Marcos 3	Isabel*/Paulsen**	ND
Amostra	Procedência (municípios-SC)	Porta-enxerto/ cultivar	Espécie
1	Tangará 1	Niágara rosada*	ND
2	Tangará 2	Moscato boule*	ND
3	Tangará 3	-	ND
4	Tangará 4	Seibel*	<i>M. javanica</i>
5	Pinheiro Preto1	Niágara Branca*	<i>M. javanica</i>
6	Pinheiro Preto 2	Isabel*	<i>M. javanica</i>
7	Pinheiro preto 3	Paulsen**	ND
8	Pinheiro Preto 4	Couder*	ND
9	Videira 1	Taná*/043**	ND
10	Videira 2	Isabel*	<i>M. javanica</i>
11	Videira 3	Isabel*	<i>M. javanica</i>
12	Caçador 1	Niágara* rosada/043**	ND
13	Caçador 2	Isabel*	ND
14	Caçador 3	Isabel*	ND
15	Caçador 4	Isabel	<i>M. javanica</i>

ND: Não detectado a presença de *Meloidogyne* sp. após análise das raízes de videira e bioensaios com plantas hospedeiras como tomate, guanxuma, fumo e alface. *cultivar copa; ** porta-enxerto. J3.- *M. javanica*; J2 - *M. javanica*.