

RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE VIDEIRA A *Mesocriconema xenoplax* (NEMATODA: CRICONEMATIDAE) E RESPOSTA A β -1,3-GLUCANASE

WELLINGTON RODRIGUES DA SILVA¹; MARGARETH DIVERS¹; CIELO PAMELA MACHACA-CALSIN¹; JERONIMO VIEIRA DE ARAUJO-FILHO¹; ANGELA DINIZ CAMPOS²; CESAR BAUER GOMES²

¹Universidade Federal de Pelotas - PPG Fitossanidade - wellington.srodrigues@hotmail.com

¹Universidade Federal de Pelotas - PPG Fitossanidade - margarethdivers@gmail.com

¹Universidade Federal de Pelotas - PPG Fitossanidade - machacacalsinpamela@gmail.com

¹Universidade Federal de Pelotas - PPG Fitossanidade - jeronimo.vieira@ufpel.edu.br

²Embrapa Clima Temperado - angela.campos@embrapa.br

²Embrapa Clima Temperado - cesar.gomes@embrapa.br

1. INTRODUÇÃO

A videira (*Vitis* spp.) é cultivada em quase toda extensão do território brasileiro. O Rio Grande do Sul é o maior produtor de uvas, contribuindo com 90% da produção do nacional (CONAB, 2018). Há vários anos tem se observado a morte de plantas de *Vitis* spp., associada a um problema conhecido como declínio e morte da videira (DMV), tornando-se um dos principais entraves aos vitivinicultores da região Sul do Brasil (GOMES; CAMPOS; COSTA, 2009). Embora de etiologia complexa, o declínio da videira tem sido associado a fatores abióticos e bióticos, dentre eles, o nematoide anelado *Mesocriconema xenoplax* (GOMES; CAMPOS; COSTA, 2009; DIVERS, 2018).

O parasitismo de *M. xenoplax* em videira provoca o escurecimento local e rápido do sistema radicular e destruição dos tecidos, resultando no atrofiamento das raízes (PINKERTON et al., 2005). Os sintomas do DMV são expressos na forma de clorose internerval nas folhas, similar à deficiência de potássio e magnésio, devido às restrições na absorção e transporte de nutrientes. Em seguida as folhas começam a encarquilhar e observa-se necrose em suas bordas. Por fim, as plantas apresentam baixo vigor, entrenós curtos, e frequentemente morrem (HICKEL; BOTTON; SCHUCK, 2010).

A resistência de porta-enxertos de videira ao nematoide anelado é vista como uma opção de manejo eficiente (FERRIS; ZHENG; WALKER, 2012), entretanto, pouco se sabe sobre a interação entre *M. xenoplax* e diferentes porta-enxertos e cultivares copa, assim como, informações sobre a resistência genética no manejo deste fitonematoide na cultura são limitadas. Diante disso, teve-se por objetivo neste estudo, avaliar a reação de genótipos de videira a *M. xenoplax*, e prospectar o impacto desse patógeno sobre o desenvolvimento das plantas, em condições de casa de vegetação.

2. METODOLOGIA

O estudo foi conduzido nos Laboratórios de Fitopatologia e de Fisiologia Vegetal e nas casas de vegetação da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Rio Grande do Sul. Como inóculo foi utilizada uma população pura de *M. xenoplax* mantida em pessegueiro (*Prunus persica* L.) e em casa de vegetação (25 ± 2°C). Foram utilizadas mudas de seis genótipos, sendo quatro porta-enxertos (Paulsen 1103, Harmony, K5BB KOBER, Magnolia e R99) e uma cultivar copa (Chardonnay). O material vegetal foi produzido pela Embrapa Uva e Vinho de Bento Gonçalves/RS através de cultura de tecidos.

As mudas foram mantidas em vasos de polietileno de cor preta com capacidade de 5 L. Cada planta foi inoculada com 500 espécimes (P_i) de *M. xenoplax*, incluindo plantas não inoculadas para comparação do desenvolvimento vegetativo. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 6x2 (6 genótipos, inoculado ou não) com cinco repetições. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em casa de vegetação ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) por 180 dias, sendo monitoradas diariamente.

Decorridos 180 dias da inoculação (DAI), as plantas foram retiradas dos vasos e avaliadas quanto ao índice de clorofila total, massa fresca da parte aérea e das raízes. Foram coletadas amostras de pecíolos (500 mg) para análise da atividade da enzima β -1,3-glucanase de acordo com metodologia proposta por ABELES e FORRENCE (1970) adaptado por CAMPOS et al. (2009). O solo de cada tratamento foi coletado, homogeneizado e uma alíquota de 250 cm³ foi utilizada para extração dos nematoides, conforme método de JENKINS (1964). Posteriormente realizou-se a contagem dos nematoides em microscópio estereoscópio, obtendo-se uma estimativa da população final (P_f) para cálculo do fator de reprodução ($FR = P_i/P_f$). A reação dos genótipos foi classificada de acordo com os valores de FR, sendo resistentes aqueles cujo nematoide apresentou $FR < 1,00$ e suscetíveis aqueles com $FR > 1,00$ (OOSTENBRINK, 1966).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância através do teste F ($p \leq 0,05$). Constatando significância estatística, as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando software estatístico R (versão 3.4.3). Complementarmente, os valores das variáveis atividade enzimática e fator de reprodução foram submetidos a análise de correlação de Pearson.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os genótipos avaliados, as cultivares 'Magnolia' e 'R99' mostraram-se resistentes ($FR < 1,00$) a *M. xenoplax*, e os demais genótipos apresentaram diferentes níveis de suscetibilidade ($12,48 > FR < 2,96$). Em relação aos parâmetros de desenvolvimento vegetal nos genótipos que se comportaram como resistentes ao nematoide, apenas 'Magnolia' não foi afetada negativamente e, apesar de 'Harmony' e 'Paulsen 1103' terem se comportado como suscetíveis, não houve redução da massa fresca da parte aérea e das raízes das plantas inoculadas. Quanto ao índice de clorofila total, não foram observadas diferenças significativas entre as plantas inoculadas e não inoculadas (Tabela 1).

Em relação a atividade da β -1,3-glucanase, com exceção da cultivar R99, os demais genótipos apresentaram aumento da atividade desta enzima nas plantas inoculadas. Na cultivar 'Magnolia' foi observado aumento próximo de 37% da atividade enzimática em plantas inoculadas. β -1,3-glucanases são proteínas relacionadas à patogênese (PR-proteínas) e degradadoras da β -1,3-glucana, um componente celular de fitopatógenos, liberando oligossacarídeos elicitores do sistema de defesa das plantas (WU; BRADFORD, 2003). Embora não haja relatos para este patossistema, PALANISAMY e KATHIRESAN (2012) relataram aumento da atividade da β -1,3-glucanase em plantas de cana-de-açúcar inoculadas com *Pratylenchus zaeae* e atribuíram este aumento como provável reação de defesa da planta contra o nematoide.

Uma hipótese para o não aumento da atividade enzimática em plantas inoculadas de 'R99' pode estar relacionado a um maior conteúdo basal da enzima neste genótipo, responsável por impedir o estabelecimento de relações alimentares entre o nematoide e a planta, diferente dos demais genótipos, onde observa-se que o aumento da atividade é um mecanismo pós-infeccional.

Tabela 1. Massa fresca da parte aérea (g) e raízes (g), clorofila total, atividade da β -1,3-glucanase (μ mol de glicose/g de tecido fresco), número de nematoides (nematoides/cm³ de solo) e fator de reprodução em genótipos de videira inoculadas com *M. xenoplax*, sob condições de casa de vegetação.

Genótipo	Peso fresco da parte aérea		Peso fresco das raízes	
	Não inoculadas	Inoculadas	Não Inoculadas	Inoculadas
Chardonnay	78,81 a ^{1/}	56,29 abc*	40,72 b	37,72 b
Paulsen 1103	62,76 a	62,04 ab	34,70 b	37,86 b
K5BB Kober	60,64 a	61,33 ab	44,56 ab	27,16 bc*
Harmony	38,59 b	32,18 c	32,28 b	22,10 bc
R99	70,60 a	52,78 bc*	53,88 a	61,39 a
Magnolia	78,82 a	78,90 a	20,04 c	14,42 c
CV (%)	16,80		24,95	
	Clorofila total		Atividade da β -1,3-glucanase	
	Não inoculadas	Inoculadas	Não Inoculadas	Inoculadas
Chardonnay	327,33 b	328,20 b	46,06 b	91,96 a*
Paulsen 1103	281,25 c	300,78 bc	50,62 b	80,55 b*
K5BB Kober	304,17 c	270,00 c	47,32 b	77,86 b*
Harmony	316,67 c	280,20 c	47,54 b	76,91 b*
R99	306,33 c	284,20 c	61,06 a	65,56 c
Magnolia	387,17 a	371,60 a	44,11 b	60,21 c*
CV (%)	10,38		9,76	
	Nematoides/250 cm ³ de solo		Fator de reprodução (FR)	
	Não inoculadas	Inoculadas	Não Inoculadas	Inoculadas
Chardonnay	570,00 a		12,48 ab	
Paulsen 1103	443,00 ab		8,03 abc	
K5BB Kober	215,00 abc		6,03 cde	
Harmony	291,00 c		2,96 bcd	
R99	31,00 d		0,86 e	
Magnolia	4,00 e		0,11 e	
CV (%)	20,53		27,70	

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) comparando os diferentes genótipos. Médias seguidas por (*) na linha diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando plantas inoculadas e não inoculadas.

Com relação às correlações apresentadas na Tabela 2, verifica-se que as variáveis fator de reprodução do nematoide e atividade da enzima β -1,3-glucanase apresentaram coeficiente de correlação positiva ($r = 0,64526$, $p < 0,0001$). Isso evidencia que, havendo aumento do fator de reprodução do nematoide, há também aumento da atividade da enzima β -1,3-glucanase da referida planta em estudo.

Tabela 2. Coeficientes de correlação de Pearson e valores p para atividade da enzima β -1,3 glucanase e fator de reprodução (FR).

	β -1,3 glucanase	FR
β -1,3 glucanase	1,0000	0,64526* ($< 0,0001^{**}$)
FR		1,0000

* Coeficiente de Correlação de Pearson. ** Valor de p .

4. CONCLUSÕES

As cultivares 'Magnolia' e 'R99' são resistentes a *M. xenoplax* e os demais genótipos apresentam diferentes níveis de suscetibilidade; e, dependendo do caso, existe correlação entre a atividade da β -1,3-glucanase e a resistência.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

CONAB - Companhia Nacional do Abastecimento - **Histórico mensal da uva (novembro/2018)**. Acessado em: 14/08/2019. Online. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/infoagro/historico-mensal-de-uva>.

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

FERRIS, H.; ZHENG, L.; WALKER, M. A. Resistance of grape rootstocks to plant-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, v. 44, n. 4, p. 377–386, 2012.

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

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

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

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

PALANISAMY, S.; KATHIRESAN, T. Induction of β -1,3-glucanase and chitinase activities in resistant and susceptible sugarcane clones inoculated with *Pratylenchus zae*. **International Journal of Nematology**, v.22, p.12-21, 2012.

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

WU, C.T.; BRADFORD, K.J. Class I chitinase and beta-1,3-glucanase are differentially regulated by wounding, methyl jasmonate, ethylene, and gibberellin in tomato seeds and leaves. **Plant Physiology**, v.133, p.263-273, 2003.