

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU**

**ESTUDOS HISTOPATOLÓGICOS E CICLOS BIOLÓGICOS DE
Meloidogyne mayaguensis E *M. javanica* EM TOMATEIROS COM GENE *Mi***

JULIANA NOGUEIRA WESTERICH

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP – Campus
de Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas)

**BOTUCATU - SP
JANEIRO - 2010**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU**

**ESTUDOS HISTOPATOLÓGICOS E CICLOS BIOLÓGICOS DE
Meloidogyne mayaguensis E *M. javanica* EM TOMATEIROS COM GENE *Mi***

**JULIANA NOGUEIRA WESTERICH
Engenheiro Agrônomo**

Orientador: PROFa. DRa. SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN

Co-orientador: PROF. DR. ROBERTO ANTONIO RODELLA

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas)

**BOTUCATU - SP
JANEIRO - 2010**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

W526e Westerich, Juliana Nogueira, 1983-
Estudos histopatológicos e ciclos biológicos de *Meloidogyne mayaguensis* e *M. javanica* em tomateiros com gene *Mi* / Juliana Nogueira Westerich. - Botucatu : [s.n.], 2010. viii, 83 f. : gráfs., tabs., fots. color.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2010
Orientador: Silvia Renata Siciliano Wilcken
Co-orientador: Roberto Antonio Rodella
Inclui bibliografia.

1. *Meloidogyne mayaguensis*. 2. *Solanum lycopersicum*. 3. Ciclo biológico. 4. Histopatologia. I. Wilcken, Silvia Renata Siciliano. II. Rodella, Roberto Antonio. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. IV. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

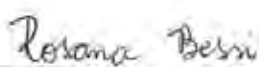
TÍTULO: “ESTUDOS HISTOPATOLÓGICOS E CICLOS BIOLÓGICOS DE *Meloidogyne mayaguensis* E *M. javanica* EM TOMATEIROS COM GENE *Mi*.”

ALUNA: JULIANA NOGUEIRA WESTERICH

ORIENTADORA: PROFª DRª SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. ROBERTO ANTONIO RODELLA

Aprovado pela Comissão Examinadora


PROFª DRª SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN


PROFª DRª ROSANA BESSI


PROF. DR. FRANCISCO ANDRE OSSAMU TANAKA

Data da Realização: 29 de janeiro de 2010.

Ofereço,

A minha avó Gercina Ester Ribeiro de Andrade (*In memorian*)
e ao meu avô Pedro Nogueira de Souza (*In memorian*),
pelos ensinamentos que sempre me acompanharão,
por serem exemplos dignos de humildade
e perseverança a serem seguidos
e pela imensa saudade.

Aos meus pais, Wilfried e Maria Dulce,
Aos meus irmãos Vanessa e Diogo,
Aos meus avós Helmut e Hannelore,
Ao meu noivo João Paulo,
Aos meus familiares,
Aos meus amigos,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar o caminho nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades.

Ao Setor de Defesa Fitossanitária do Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônômicas/UNESP, pela oportunidade da realização deste curso de Mestrado.

Ao CNPq, pela bolsa de estudo concedida durante o curso de mestrado.

À FAPESP por acreditarem no projeto e pelo apoio financeiro concedido para realização do mesmo.

A minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Silvia Renata Siciliano Wilcken, do Departamento de Produção Vegetal, da Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu – UNESP, por acreditar em mim, pelos ensinamentos e dicas de pesquisa, pelas horas de leituras gastas no meu trabalho e pela paciência e amizade imprescindíveis para mim aqui em Botucatu.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Roberto Antonio Rodella, do Departamento de Botânica, do Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP, por acreditar neste projeto, aceitando colaborar com o mesmo e contribuindo para o meu crescimento profissional. Sua participação foi fundamental para a realização deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Rosana Bessi e ao Prof. Dr. Francisco André Ossamu Tanaka pela participação como membros da banca.

À Prof^a. Dr^a. Martha M. Mischon, ao Prof. Dr. Augusto Ramalho de Moraes e a minha amiga Elisa, pela ajuda na elaboração e interpretação da análise estatística de parte deste experimento.

Às empresas Sakata e Takii, por fornecerem as sementes para a execução deste trabalho.

À amiga Juliana Magrinelli Osório Rosa, que desde o início acompanhou meu trabalho, por ser para mim como uma irmã, sempre presente, sempre apoiando, incentivando, ajudando e me ouvindo nestes anos que compartilhamos.

Às amigas do Laboratório de Nematologia, Lucivane Aparecida Gonçalves e Juliana Cardoso do Prado, pela amizade, pelos bons momentos compartilhados e companhia nas idas ao Departamento de madrugada. Vocês foram imprescindíveis na realização deste trabalho.

À amiga e técnica do Laboratório de Nematologia, Maria de Fátima Almeida Silva, que participou diretamente deste trabalho e me ajudou em muitos momentos de apuro.

A todos os PROFESSORES, AMIGOS e FUNCIONÁRIOS do Setor de Defesa Fitossanitária, pelo aprendizado, convívio e amizade. Jamais me esquecerei de vocês.

Aos colegas do Laboratório de Anatomia Vegetal do IBB, especialmente a Renatinha, por me receberem tão bem e auxiliarem em parte do experimento.

À minha família, a qual amo muito, pelo estímulo e apoio incondicional desde a primeira hora; pela paciência e grande amizade com que sempre me ouviram, e sensatez com que sempre me ajudaram. Sempre senti a falta de vocês a cada dia que passava!

Ao meu noivo João Paulo, por sempre me incentivar, me apoiar e, o melhor de tudo, me cobrar para que eu continuasse e concluísse mais esta etapa de nossas vidas que vamos construindo juntos. E, como você me disse, “sempre foi e será um prazer estar ao seu lado”.

Aos amigos Chrystiane, Felipe (Serelepe), Augusto (Miguxo) e Paula Raquel (Pachel), serei eternamente grata por tudo que fizeram por mim durante esta etapa da minha vida.

E, a todos que me ajudaram e estiveram ao meu lado durante estes anos, obrigada!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	VII
LISTA DE FIGURAS.....	VIII
RESUMO.....	1
SUMMARY.....	3
1 INTRODUÇÃO.....	5
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
2.1 Gênero <i>Meloidogyne</i>	7
2.2 Aspectos biológicos do gênero <i>Meloidogyne</i>	8
2.3 Histopatologia de <i>Meloidogyne</i> spp.....	13
2.4 A espécie <i>Meloidogyne mayaguensis</i>	20
2.5 Características gerais do tomateiro.....	26
2.6 Aspectos da resistência de tomateiros à Meloidoginose.....	29
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.1 Local de execução do experimento.....	35
3.2 Preparo e condução das plantas.....	35
3.3 Origem e multiplicação do inóculo.....	36
3.4 Preparo do inóculo e inoculação das plantas.....	36
3.5 Épocas de coleta.....	37
3.5.1 Ciclo biológico de <i>M. mayaguensis</i> em raízes de tomateiros.....	37
3.5.2 Histopatologia de <i>M. mayaguensis</i> em tomateiros.....	38
3.6 Análise dos resultados.....	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.1 Ciclo biológico de <i>M. mayaguensis</i> em raízes de tomateiros.....	40
4.2 Histopatologia de <i>M. mayaguensis</i> em tomateiros.....	51
5 CONCLUSÕES.....	63
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
7 APÊNDICE.....	81

LISTA DE TABELAS

Tabelas	Página
Tabela 1. Médias referentes à porcentagem de juvenis de segundo estágio (J _{2a}) de <i>Meloidogyne javanica</i> (Mj) e <i>Meloidogyne mayaguensis</i> (Mm) no sistema radicular de porta-enxertos de tomateiro ‘Helper M’ e ‘Magnet’, em Botucatu-SP, 2009.....	47
Tabela 2. Médias referentes à porcentagem de juvenis de segundo estágio (J _{2b}) de <i>Meloidogyne javanica</i> (Mj) e <i>Meloidogyne mayaguensis</i> (Mm) no sistema radicular de porta-enxertos de tomateiro ‘Helper M’ e ‘Magnet’, em Botucatu-SP, 2009.....	47
Tabela 3. Médias referentes à porcentagem de juvenis de terceiro estágio (J ₃) de <i>Meloidogyne javanica</i> (Mj) e <i>Meloidogyne mayaguensis</i> (Mm) no sistema radicular de porta-enxertos de tomateiro ‘Helper M’ e ‘Magnet’, em Botucatu-SP, 2009.....	48
Tabela 4. Médias referentes à porcentagem de juvenis de quarto estágio (J ₄) de <i>Meloidogyne javanica</i> (Mj) e <i>Meloidogyne mayaguensis</i> (Mm) no sistema radicular de porta-enxertos de tomateiro ‘Helper M’ e ‘Magnet’, em Botucatu-SP, 2009.....	48
Tabela 5. Médias referentes à porcentagem de machos (M) de <i>Meloidogyne javanica</i> (Mj) e <i>Meloidogyne mayaguensis</i> (Mm) no sistema radicular de porta-enxertos de tomateiro ‘Helper M’ e ‘Magnet’, em Botucatu-SP, 2009.....	49
Tabela 6. Médias referentes à porcentagem de fêmeas sem ovos (F ₁) de <i>Meloidogyne javanica</i> (Mj) e <i>Meloidogyne mayaguensis</i> (Mm) no sistema radicular de porta-enxertos de tomateiro ‘Helper M’ e ‘Magnet’, em Botucatu-SP, 2009.....	49
Tabela 7. Médias referentes à porcentagem de fêmeas com ovos (F ₂) de <i>Meloidogyne javanica</i> (Mj) e <i>Meloidogyne mayaguensis</i> (Mm) no sistema radicular de porta-enxertos de tomateiro ‘Helper M’ e ‘Magnet’, em Botucatu-SP, 2009.....	50
Tabela 8. Valores médios da área (mm ²) da seção total da raiz (ASR), do conjunto epiderme e córtex (AEpC), do cilindro vascular (ACV), da área (x10 ⁻³ mm ²) do sítio de alimentação (ASA), da célula gigante (ACG), do número de sítios de alimentação (NSA) e do número de células gigantes (NCG), avaliados aos 10, 17 e 24 dias após a inoculação (DAI) com <i>Meloidogyne mayaguensis</i> (Mm) e <i>Meloidogyne javanica</i> (Mj), em porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ (M) e ‘Helper M’ (H).....	59
Tabela 9. Correlações entre sete características anatômicas quantitativas das raízes de dois porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ e ‘Helper M’ inoculadas com <i>Meloidogyne mayaguensis</i> e <i>Meloidogyne javanica</i> avaliadas em três épocas de coleta, e os dois primeiros componentes principais (Y ₁ e Y ₂). Porcentagem da informação retida e acumulada em Y ₁ e Y ₂	60

LISTA DE FIGURAS

Figuras	Página
Figura 1. Número de indivíduos dos diferentes estádios de desenvolvimento de <i>Meloidogyne javanica</i> e <i>Meloidogyne mayaguensis</i> no sistema radicular dos porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ e ‘Helper M’, ao 3º dia após a inoculação.....	44
Figura 2. Número de indivíduos dos diferentes estádios de desenvolvimento de <i>Meloidogyne javanica</i> e <i>Meloidogyne mayaguensis</i> no sistema radicular dos porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ e ‘Helper M’, ao 10º dia após a inoculação.....	44
Figura 3. Número de indivíduos dos diferentes estádios de desenvolvimento de <i>Meloidogyne javanica</i> e <i>Meloidogyne mayaguensis</i> no sistema radicular dos porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ e ‘Helper M’, ao 17º dia após a inoculação.....	45
Figura 4. Número de indivíduos dos diferentes estádios de desenvolvimento de <i>Meloidogyne javanica</i> e <i>Meloidogyne mayaguensis</i> no sistema radicular dos porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ e ‘Helper M’, ao 24º dia após a inoculação.....	45
Figura 5. Número de indivíduos dos diferentes estádios de desenvolvimento de <i>Meloidogyne javanica</i> e <i>Meloidogyne mayaguensis</i> no sistema radicular dos porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ e ‘Helper M’, ao 31º dia após a inoculação.....	46
Figuras 6-11. Secções transversais de raízes dos porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ e ‘Helper M’ inoculadas com <i>Meloidogyne javanica</i>	56
Figuras 12-17. Secções transversais de raízes do porta-enxerto de tomateiro ‘Magnet’ inoculadas com <i>Meloidogyne mayaguensis</i>	57
Figuras 18-23. Secções transversais de raízes do porta-enxerto de tomateiro ‘Helper M’ inoculadas com <i>Meloidogyne mayaguensis</i>	58
Figura 24. Dendrograma resultante da Análise de Agrupamento das sete características anatômicas quantitativas das raízes de porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ e ‘Helper M’ inoculadas com <i>Meloidogyne mayaguensis</i> e <i>Meloidogyne javanica</i> utilizando-se a Distância Euclidiana Média entre os 12 tratamentos.....	61
Figura 25. Dispersão gráfica dos 12 tratamentos analisados, utilizando-se os dois primeiros componentes principais (Y_1 e Y_2), para o conjunto das sete características anatômicas quantitativas das raízes de porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ (M) e ‘Helper M’ (H), inoculadas com <i>Meloidogyne mayaguensis</i> (Mm) e <i>Meloidogyne javanica</i> (Mj), avaliadas em três diferentes épocas de coleta (E2-E3-E4, respectivamente, aos 10, 17 e 24 dias após a inoculação).....	62

RESUMO

A espécie *Meloidogyne mayaguensis* vem causando grande preocupação por ser capaz de vencer a resistência de tomateiros portadores do gene *Mi*. O objetivo do trabalho foi estudar o ciclo biológico e a histopatologia de *M. mayaguensis* em tomateiros resistentes a meloidoginose e compará-los com os aspectos biológicos e histopatológicos de *Meloidogyne javanica* nas mesmas plantas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, sendo para o estudo do ciclo biológico composto de vinte tratamentos (dois porta-enxertos de tomateiro, 'Magnet' e 'Helper M'; duas espécies de nematoides das galhas, *M. mayaguensis* e *M. javanica*; e cinco épocas de coleta, 3 DAI, 10 DAI, 17 DAI, 24 DAI e 31 DAI), com cinco repetições. Para o estudo da histopatologia, composto por 12 tratamentos (dois porta-enxertos de tomateiro, 'Magnet' e 'Helper M'; duas espécies de nematoides das galhas, *M. mayaguensis* e *M. javanica*; e três épocas de coleta, 10 DAI, 17 DAI e 24 DAI), com três repetições. As plantas foram inoculadas com 500 juvenis infectivos (J_2) de *M. mayaguensis* ou *M. javanica*. As avaliações foram realizadas em cinco épocas de coleta. Em cada coleta, cinco plantas foram retiradas ao acaso e suas raízes separadas em duas porções. Uma das partes foi submetida à coloração com Fucsina Ácida e dissecada sob microscópio estereoscópico para a contagem dos diferentes estádios de desenvolvimento dos nematoides. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Na outra porção do sistema radicular, foram feitos cortes histológicos transversais com 8 μ m de espessura, corados com

Floxina B seguido de Azul de Toluidina 0,05%, para determinação dos números e áreas das células gigantes e dos sítios de alimentação presentes no cilindro vascular da raiz. Os dados obtidos foram submetidos aos testes estatísticos multivariados de Análise de Agrupamento e Análise de Componentes Principais. Os resultados mostraram que a espécie *M. mayaguensis* foi capaz de se desenvolver normalmente nos porta-enxertos, completando seu ciclo aos 24 dias após a inoculação (DAI). A espécie *M. javanica*, apesar de conseguir penetrar no sistema radicular dos porta-enxertos, não conseguiu se desenvolver além do segundo estágio, não completando o ciclo e confirmando a resistência presente nestes porta-enxertos a essa espécie. No estudo histopatológico, entre os 10 e 17 DAI *M. mayaguensis* incitou o aparecimento de células nutridoras em ambos os porta-enxertos de tomateiro. O número e a área de sítios de alimentação e de células gigantes foram menores aos 17 DAI do que aos 24 DAI. Nesta época (24 DAI) foram observados sítios de alimentação constituídos pela presença de várias células nutridoras multinucleadas, com parede celular espessa, citoplasma denso e granuloso em ambos os porta-enxertos.

Palavras-chave: *Meloidogyne mayaguensis*, *Solanum lycopersicum*, ciclo biológico, histopatologia.

HISTOPATHOLOGY AND BIOLOGICAL CYCLE OF *Meloidogyne mayaguensis* AND *M. javanica* IN TOMATO WITH GENE *Mi*. Botucatu, 2010. 83p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: JULIANA NOGUEIRA WESTERICH

Adviser: SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN

Co-adviser: ROBERTO ANTONIO RODELLA

SUMMARY

The species *Meloidogyne mayaguensis* is causing great concern for being able to overcome the resistance of tomatoes carrying the *Mi* gene. The objective of this work was to study the life cycle and the histopathological changes of *M. mayaguensis* in nematode-resistant tomatoes and compare them with biological and histopathological aspects of *Meloidogyne javanica* in the same plants. The experimental design was completely randomized, and to study the life cycle composed of twenty treatments (two varieties of tomato, 'Magnet' and 'Helper M', two species of nematodes, *M. javanica* and *M. mayaguensis* and five harvest dates, 3 DAI, 10 DAI, 17 DAI, 24 DAI and 31 DAI), with five replicates. To study the histopathology, composed of 12 treatments (two varieties of tomato, 'Magnet' and 'Helper M', two species of nematodes, *M. javanica* and *M. mayaguensis* and three harvest dates, 10 DAI, 17 DAI and 24 DAI), with three replications. The plants were inoculated with 500 infective juveniles (J_2) of *M. mayaguensis* or *M. javanica*. The evaluations were conducted in five sampling times. At each harvest, five plants were taken at random and their roots separated into two parts. The first was stained with Acid Fuchsin and dissected under a stereomicroscope to count the different developmental stages of nematodes. The data were subjected to analysis of variance and means compared by Tukey test at 5% probability. In the another portion of the root system, 8 microns thick transversal sections were obtained, stained with Phloxine B followed by Toluidine Blue 0.05%, for determining the numbers and areas of giant cells and feeding sites in the vascular cylinder. The data were subjected to Multivariate

Cluster Analysis and Principal Component Analysis. The results showed that the species *M. mayaguensis* was able to develop normally in the root-stocks, completing its cycle 24 days after inoculation (DAI). The species *M. javanica*, although can penetrate the root system of the root-stocks, failed to develop beyond the second stage juvenile, failing to complete the cycle and this confirms the resistance of these root-stocks to this species. In the histopathological study, between 10 and 17 DAI *M. mayaguensis* encouraged the emergence of nurse cells in both rootstocks of tomato. The number and area of feeding sites and giant cells were smaller at 17 DAI than at 24 DAI. At this time (24 DAI), feeding sites were marked by the presence of several multinucleated nurse cells, with thick cell walls, dense and granular cytoplasm in both root-stocks.

Key-words: *Meloidogyne mayaguensis*, *Solanum lycopersicum*, biological cycle, histopathology.

1 INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das mais importantes olerícolas cultivadas no mundo. Apesar de ser nativo da região dos Andes, foi oficialmente introduzido no Brasil pelos imigrantes europeus durante a última metade do século XIX. Atualmente, variedades antigas e cultivares melhorados são cultivados em diferentes regiões brasileiras.

Os patógenos do solo possuem grande importância na cultura do tomateiro, pelos danos causados e pelas dificuldades no controle. Dentre estes, os nematoides fitoparasitos destacam-se como os principais patógenos do sistema radicular do tomateiro, sendo os formadores de galhas, do gênero *Meloidogyne* Goeldi (1887), especialmente as espécies *M. incognita* (Kofoid e White) Chitwood e *M. javanica* (Treub) Chitwood, consideradas as de maior importância (Gowen e Quénehervé, 1990). Estes, em muitos casos inviabilizam a produção e o cultivo em áreas infestadas.

As plantas de tomateiro, quando severamente atacadas por *Meloidogyne* spp., apresentam o sistema radicular completamente desorganizado e com poucas raízes funcionais. Em altas infestações do nematoide no início da cultura, pode ocorrer a morte de mudas no campo, e nas plantas sobreviventes, a produção é fortemente afetada em quantidade e qualidade (Alvarenga, 2004).

A espécie *M. mayaguensis* Rammah e Hirschmann foi assinalada pela primeira vez no Brasil em Petrolina (PE), Curaçá e Maniçoba (BA), causando danos em

plantios comerciais de goiabeira (Carneiro et al., 2001).

Infestações de *M. mayaguensis* também foram detectadas em goiabeiras ‘Paluma’ com dois anos de idade no Rio de Janeiro. Nesse mesmo Estado, essa espécie foi registrada em áreas de Mata Atlântica, sugerindo que esse nematoide seja nativo do Brasil (Carneiro, 2003).

Em São Paulo, *M. mayaguensis* foi detectada pela primeira vez parasitando o porta-enxerto de pimentão ‘Silver’ e tomateiros ‘Andréa’ e ‘Débora’, considerados resistentes a meloidoginose. Essa espécie vem causando perdas nessas culturas em alguns municípios do Estado (Carneiro et al., 2006b).

Esta espécie é polífaga, de alta virulência, com potencial de multiplicação superior a *M. incognita* em cultivares suscetíveis de tomateiro, e capaz de vencer a resistência do cultivar Rossol de tomateiro, portadora do gene *Mi*, que confere resistência às principais espécies de nematoides das galhas (Carneiro et al., 2001).

Cantu et al. (2009) determinaram o fator de reprodução de *M. mayaguensis* em diferentes porta-enxertos de tomateiros portadores do gene *Mi* disponíveis no mercado brasileiro, os quais variaram de 11,34 (TMA-804) a 18,21 (Dr. K). O tomateiro ‘Rutgers’ utilizado como padrão de viabilidade do inóculo teve fator de reprodução igual a 17,72.

Portanto, visou com o presente trabalho estudar os ciclos biológicos de *M. mayaguensis* e de *M. javanica* e estudar a relação parasito-hospedeiro dessas espécies em raízes de tomateiros resistentes à meloidoginose.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Gênero *Meloidogyne*

De acordo com a classificação proposta por De Ley e Blaxter (2002), os nematoides formadores de galhas pertencem ao Reino Animal, Filo Nematoda Potts, 1932; Classe Chromadorea Inglis, 1983; Subclasse Chromadoria Pearse, 1942; Ordem Rhabditida Chitwood, 1933; Subordem Tylenchina Thorne, 1949; Infraorder Tylenchomorpha De Ley e Blaxter, 2002; Superfamília Tylenchoidea Örley, 1880; Família Meloidogynidae Skarbilovich, 1959; Subfamília Meloidogyninae Skarbilovich, 1959; Gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1892.

Segundo Karssen e Moens (2006), até o final de 2004, 106 espécies do gênero *Meloidogyne* tinham sido descritas, compreendendo 89 espécies nominais, 13 espécies sinonimizadas e quatro espécies *inquirendae*.

Em 1887, Goeldi relatou a primeira referência sobre os nematoides formadores de galhas realizada em 1878, por Jobert, na antiga Província do Rio de Janeiro, quando foram observadas, em raízes de cafeeiro, a presença de pequenas e numerosas estruturas denominadas galhas, nas quais ocorriam estruturas císticas que continham ovos elípticos e pequenos animais vermiformes denominados por Goeldi de *M. exigua* (Moura, 1998).

Os nematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* são endoparasitas sedentários obrigatórios possuindo mais de três mil espécies de plantas tidas como hospedeiras

em potencial (Castagnone-Sereno, 2002).

Além dos danos causados diretamente pelo parasitismo nas raízes, os nematoides facilitam a penetração de fungos e bactérias danificando ainda mais a planta (Lordello, 1992). Desta forma, os efeitos dos fitonematoides envolvem queda na produção e na qualidade para uma grande variedade de culturas economicamente importantes (Castagnone-Sereno, 2002).

A capacidade reprodutiva dos nematoides das galhas varia em função da planta hospedeira, entretanto, se adaptam facilmente em diferentes espécies vegetais, assegurando sua sobrevivência por longos períodos, em diferentes tipos de ecossistemas naturais (Ferraz, 2001).

A maioria dos estudos enfocando a relação entre a infecção e a nutrição das plantas demonstrou que a infecção por *Meloidogyne* promove um aumento das concentrações de N, P e K nas partes aéreas das plantas. O fornecimento de nutrientes às plantas infectadas frequentemente aumenta a tolerância ao parasitismo de *Meloidogyne* (Karssen e Moens, 2006).

A ampla distribuição geográfica de algumas espécies de *Meloidogyne*, consideradas cosmopolitas, é facilmente compreendida ao somar o alto grau de polifagia dessas espécies com o comércio (nacional e internacional) indiscriminado de mudas e materiais de propagação vegetativa parasitados por espécies de *Meloidogyne* que vem ocorrendo há muitas décadas (Ferraz, 2001).

2.2 Aspectos biológicos do gênero *Meloidogyne*

O ciclo de vida dos nematoides do gênero *Meloidogyne* completa-se geralmente sob temperatura de 27°C entre os 22 a 30 dias. Porém, qualquer espécie reduz ou até mesmo cessa por completo as suas atividades vitais em temperaturas superiores a 40°C ou inferiores a 5°C (Ferraz, 2001).

Segundo Karssen e Moens (2006), os ovos dos nematoides das galhas ficam envoltos por uma massa gelatinosa que geralmente é depositada na superfície das raízes “galhadas” ou, algumas vezes, dentro das mesmas. A eclosão dos juvenis de *Meloidogyne* é dependente da temperatura e ocorre sem a necessidade de estímulos das raízes das plantas;

embora alguns exsudatos radiculares estimulem a eclosão. Diversos fatores químicos e físicos também influenciam no processo de eclosão, entre eles estão a umidade e a aeração do solo, o pH e os produtos químicos orgânicos e inorgânicos contidos na água do solo (Tihohod, 2000).

O ciclo de vida de *Meloidogyne* consiste de seis estádios fenológicos: ovo, quatro juvenis (J_1 , J_2 , J_3 , J_4) e adulto (Van Der Eycken et al., 1996; Gheysen e Fenoll, 2002). Inicia-se com o ovo unicelular, o qual é depositado pela fêmea. O desenvolvimento do ovo ocorre dentro de poucas horas após a oviposição, resultando em 2, 4, 8 e mais células, até a total formação do juvenil de primeiro estágio (J_1) no seu interior (Saigusa, 1957).

A primeira ecdise ocorre no interior do ovo, originando um juvenil de movimentos rápidos, o juvenil de segundo estágio (J_2), que eclode depois de perfurar com seu estilete uma das extremidades da casca do ovo e passando a migrar no solo à procura de raízes de plantas que possa hospedá-lo. O estágio infectivo (J_2) e os machos são os estádios que podem mover livremente no solo. Os J_2 podem sobreviver no solo num estado quiescente por um longo período. Entretanto, durante tal período eles consomem suas reservas nutricionais estocadas no intestino e sua infectividade pode ser reduzida. Os J_2 são atraídos pelos seus hospedeiros, e para localizá-los depende da percepção de gradientes de exsudatos emanados das raízes das plantas. A natureza do estímulo produzido pela raiz e percebido pelos J_2 não é muito clara (Russel, 1977). Muitos compostos orgânicos e inorgânicos são excretados pelas raízes no solo e podem influenciar os J_2 , como o dióxido de carbono considerado como um dos mais importantes fatores da atração planta-nematoide.

Quando os nematoides das galhas entram em contato com as raízes das plantas, em geral, eles penetram imediatamente. A penetração ocorre próxima ao ápice radicular, mas pode ocorrer em outros sítios. Os J_2 penetram a rígida parede das células radiculares pela combinação de injúria física via inserção do estilete e decomposição da parede por enzimas celulíticas e pectolíticas. Após a penetração, geralmente com múltiplas infecções numa mesma raiz, o tecido radicular pode alargar e o desenvolvimento radicular muitas vezes cessa por um período. Após a penetração na raiz, os J_2 migram intercelularmente no córtex na região de diferenciação celular. Esta migração causa nas células a destruição ao longo da lamela média. As células ao longo do caminho tornam-se distendidas, mas raramente apresentam sinais da alimentação do nematoide. Circundam a barreira formada pela endoderme e migram ao longo do tecido radicular. Subsequentemente, eles se movem em

direção ao cilindro vascular e, após migrarem uma pequena distância, os J₂ tornam-se imóveis no tecido cortical da zona de diferenciação. A cabeça dos J₂ fica embebida na periferia do tecido vascular e o resto do corpo fica no córtex paralelo ao eixo longitudinal da raiz (Karssen e Moens, 2006).

Em sequência à penetração do tecido do hospedeiro e estabelecimento do sítio de alimentação, os J₂ sofrem algumas mudanças morfológicas. Os nematoides aumentam levemente seu comprimento. Simultaneamente, ocorre o aumento das glândulas esofagianas e do metacorpo. As células do primórdio genital se dividem, e seis glândulas retais, as quais secretam a massa de ovos, desenvolvem-se após o final do estágio das fêmeas jovens. Durante o desenvolvimento, os juvenis gradualmente assumem um formato salsichóide e sofrem três ecdises. A última ecdise compreende a verdadeira metamorfose para o macho, que se apresenta como um nematoide longo e filiforme dentro da cutícula do quarto estágio juvenil (J₄), retida como revestimento. A fêmea adulta, no início, mantém o mesmo formato do último estágio juvenil, mas aumenta quando madura e torna-se piriforme. As fêmeas secretam a massa gelatinosa dentro das quais depositam os ovos. A energia necessária para completar as terceiras e quartas ecdises é obtida pelo nematoide antes da segunda ecdise porque este é incapaz de se alimentar no seu hospedeiro desde o início da segunda ecdise até completar a quarta ecdise. Isto acontece porque durante este período o nematoide não possui estilete. Depois da quarta ecdise, o estilete reaparece e os órgãos dos aparelhos digestivos e reprodutivos são desenvolvidos.

É bem conhecida que a proporção de machos na população, ao menos em espécies partenogênicas, varia de acordo com a planta hospedeira e as condições ambientais (Karssen e Moens, 2006). As espécies de fertilização cruzada (*M. carolinensis*, *M. spartinae*) geralmente tem proporção de 1 macho:1 fêmea. Espécies que se reproduzem por partenogênese facultativa ou obrigatória (*M. hapla*, *M. incognita*) têm variação na proporção sexual. Dependendo das condições ambientais, machos podem estar ausentes, raros ou abundantes. Dependendo do estágio de desenvolvimento no qual ocorre a reversão sexual nos machos, estes podem ter 1 a 2 gônadas de tamanhos diferentes. Sob condições adversas de desenvolvimento, a oferta de alimento pode ser fator determinante para a abundância de machos na raiz. Em outras condições, fêmeas jovens podem se tornar machos adultos. E, algumas vezes podem aparecer machos com vulvas (Karssen e Moens, 2006).

O número de gerações por ano varia de acordo com a espécie e disponibilidade de alimento, sendo, geralmente muitas, mas em algumas espécies como, por exemplo, *Meloidogyne naasi*, apenas uma. Cada fêmea pode colocar de 30–80 ovos/dia; o número depende da planta hospedeira e das condições climáticas. Os ovos de *Meloidogyne* são depositados na matriz gelatinosa, a qual não está contida no corpo e, além da proteção relativa que oferece frente a inimigos naturais, tal material atua como sinalizador de eventuais condições externas desfavoráveis, podendo o nematoide sobreviver no solo por longos períodos (Karszen e Moens, 2006).

A penetração e o desenvolvimento dos juvenis infectantes de *Meloidogyne* spp. foram estudados em diferentes culturas comparando-se genótipos resistentes e suscetíveis.

Costa et al. (1998) compararam a penetração e o desenvolvimento de *Meloidogyne javanica* em raízes de uma linhagem de feijão guandu I-265 (*Cajanus Cajan*) e tomateiro ‘Rutgers’ (*Solanum lycopersicum*). As mudas foram inoculadas com 5.000 ovos de *M. javanica* e de quatro em quatro dias após a inoculação (durante 32 dias), duas plantas de cada espécie em estudo foram avaliadas colorindo seu sistema radicular com fucsina ácida, para a contagem do número de nematoides e avaliações do desenvolvimento. Os resultados obtidos mostraram que ambas as espécies atraíram e permitiram a penetração de *M. javanica*, sendo que os juvenis que penetraram no tomateiro desenvolveram-se em adultos mais rapidamente e em maior número do que aqueles que penetraram em raízes de guandu I-265.

Estudando a penetração e o desenvolvimento de *M. incognita* e *M. javanica* em quatro gramíneas forrageiras (*Brachiaria brizantha*, *B. decumbens*, *Panicum maximum* cv. Guiné e *Andropogon gayanus* cv. Planaltina), Dias-arieira et al. (2002) constataram não haver diferença entre a penetração de J₂ de *M. incognita* e *M. javanica* nas gramíneas estudadas. Não foram encontrados J₃/J₄ dessas espécies nas raízes de *B. brizantha* e *P. maximum* cv. Guiné durante o experimento, e somente um J₃ de *M. incognita* foi encontrado na raiz de *B. decumbens* aos 48 dias após a inoculação. Nas raízes de *A. gayanus* cv. Planaltina, fêmeas de *M. javanica* começaram a ser formadas após 42 dias, porém em número bastante reduzido. A baixa penetração e a inibição do desenvolvimento dos nematoides em *B. brizantha*, *B. decumbens*, *P. maximum* cv. Guiné sugere ação nematicida ou nematostática de algum composto químico presente nas raízes dessas gramíneas, favorecendo suas

recomendações para o uso em esquemas de rotação de culturas.

Na interação algodoeiro com *M. incognita* raça 3, Carneiro et al. (2005) observaram que, embora os J₂ tenham penetrado as raízes do genótipo resistente e suscetível, seu desenvolvimento foi seriamente comprometido no genótipo resistente, pois falharam no estabelecimento e manutenção das células gigantes (não suportaram a alimentação de fêmeas normais em oviposição), resultando em baixa reprodução. Também não foram observadas necroses, comumente associadas a reações de hipersensibilidade.

Oliveira (2006) estudou os mecanismos envolvidos em uma interação incompatível, comparando a penetração e o desenvolvimento pós-infectivo de uma população não patogênica de *M. incognita* a cafeeiro (População de Minas Gerais) com uma população patogênica ao cafeeiro (População de São Paulo). Para tanto, utilizou mudas de cafeeiro *Coffea arabica* ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ (suscetível) e de *C. canephora* ‘Apoatã IAC 2258’ (resistente). As mudas foram colhidas a cada dois dias, do primeiro ao décimo dia, e a cada cinco dias, do décimo ao quadragésimo dia após a inoculação. Os resultados obtidos mostraram que a penetração de juvenis de segundo estágio da população de *M. incognita* de São Paulo foi maior do que a apresentada pela população de Minas Gerais, tanto em cafeeiro suscetível, quanto no resistente. Ocorreu maior penetração de juvenis das duas populações no cafeeiro suscetível. Nas avaliações posteriores, observaram apenas o desenvolvimento nos indivíduos pertencentes à população de *M. incognita* de São Paulo em cafeeiro ‘Catuaí’. Concluindo que os mecanismos que conferiram incompatibilidade entre populações de *M. incognita* de Minas Gerais e o cafeeiro atuaram principalmente na fase de penetração da forma infectiva, mas também foi acompanhada pela ação de fatores de resistência pós-penetração que ocasionaram uma significativa emigração dos juvenis de segundo estágio e impediram o estabelecimento do nematoide.

Avaliando o efeito do tempo (2, 4, 6 e 8 dias após a inoculação), substrato (areia fina quartzífera ou mistura de solo e areia grossa na proporção de 2:1, umedecidos e previamente autoclavados) e temperatura (12, 16, 20, 24, 28 ou 32°C) na penetração de juvenis de segundo estágio de *M. javanica* em cultivares de soja, Campos et al. (2006) observaram que independente do substrato, a penetração dos J₂ aos 2 dias foi baixa em comparação com os demais períodos. A maior penetração observada em areia fina ocorreu aproximadamente aos 4,4 dias após a inoculação e na mistura solo-areia grossa, o aumento foi

linear do 2º ao 8º dias após a inoculação. A maior penetração observada ocorreu na temperatura de 24°C independente da resistência do cultivar, sendo que no cultivar resistente a penetração não foi alterada entre 24 e 28°C. Em ambos cultivares, a partir de 28°C houve queda acentuada na penetração dos J₂ e entre as temperaturas de 12 e 20°C, não houve variação na quantidade de J₂ que penetraram no sistema radicular.

Em estudo realizado por Moritz et al. (2008a) com o objetivo de identificar os possíveis mecanismos de resistência envolvidos nas interações entre *M. paranaensis* e dois cultivares de soja, um resistente ('CD 203') e um suscetível ('CD 214 RR'), concluíram que não houve diferença significativa no número de J₂ que penetraram as raízes dos dois cultivares aos 2, 4, 6 e 8 dias após a inoculação. Entretanto, poucos foram os J₂ que penetraram as raízes do cultivar resistente e conseguiram se estabelecer; entretanto, tiveram seu desenvolvimento prejudicado acarretando na baixa produção de ovos.

Pontes et al. (2009a) avaliaram seis acessos do Banco de Germoplasma de melancia do Centro de Pesquisa do Trópico Semi-Árido da EMBRAPA para resistência a *Meloidogyne mayaguensis*, sendo eles 92-0221, 92-0223, PI244019, 92-385 (Pi -10 A) pertencentes ao grupo *Citrullus lanatus* var. Citróide e 92-0228, Tra 2, pertencentes ao grupo *Citrullus lanatus* var. Lanatus. A avaliação quanto à penetração e desenvolvimento de *M. mayaguensis*, acompanhando a evolução dos juvenis do segundo estágio até a forma adulta e aferindo a produção de ovos e índice de galhas, mostrou que o genótipo PI244019 destacou-se dos demais apresentando significativamente menor penetração, taxa de desenvolvimento e conseqüentemente menor produção de ovos, sem apresentar formação de galhas.

2.3 Histopatologia de *Meloidogyne* spp.

Os nematoides formadores de galhas estão envolvidos em complexas interações com seus hospedeiros, induzindo inúmeras alterações na estrutura das células que fornecem alimento para eles (Sijmons et al., 1994).

Os juvenis de segundo estágio penetram na ponta da raiz e pela injeção de substâncias, modificam algumas células localizadas próximas à região dos vasos dando origem às chamadas células gigantes ou nutridoras, que aumentam de tamanho e passam a fornecer alimento ao juvenil que se torna sedentário. O nematoide perfura as células com seu

estilete introduzindo nas mesmas o produto de suas glândulas esofagianas e incitando assim o surgimento das células gigantes que estão localizadas geralmente no cilindro vascular as quais fornecem nutrientes essenciais para seu desenvolvimento (Jones, 1981). A secreção produzida pelas glândulas esofagianas é composta por lisina, histidina, arginina, glicoproteínas (Veech et al., 1987) e peroxidases (Hussey e Sasser, 1973).

As células gigantes e as galhas são respostas distintas a um mesmo evento, qual seja a injeção de secreções produzidas pelas glândulas esofagianas do nematoide em células das raízes da planta hospedeira. As células gigantes são essenciais ao desenvolvimento e a reprodução do parasito, porém as galhas não. As galhas, na verdade, constituem apenas bons indicadores da extensão das reações hiperplástica e hipertrófica dos tecidos afetados pelas secreções, podendo ser formadas bem antes que as células gigantes e mesmo na ausência destas (Ferraz, 2001).

As galhas radiculares, portanto, são alterações anatômicas causadas pela presença do nematoide no córtex, como também no cilindro vascular, através do incremento de volume das células gigantes, ocasionando deformações no xilema (Krusberg e Nielsen, 1958; Siddiqui e Taylor, 1970), bem como no floema, e a compressão de ambos (Jones e Dropkin, 1976; Finley, 1981), podendo levar a planta à morte (Jaehn, 1989).

Durante muitos anos existiram diferentes hipóteses sobre os mecanismos pelos quais as células gigantes são formadas. No início de 1898, Beille sugeriu que a formação da célula gigante envolvia a dissolução da parede celular e posterior fusão dos citoplasmas das células adjacentes (Huang, 1985). Autores como Krusberg e Nielsen (1958) e Owens e Specht (1964) também constataram a ocorrência da dissolução das paredes adjacentes à célula gigante, ocasionando a coalescência de protoplastos e originando, com isso, uma célula multinucleada.

Segundo Jones e Payne (1978) em tecidos observados 24 horas após a infecção, não foi observada a dissolução da parede apesar da evidência de recentes eventos mitóticos serem frequentemente vistos em células adjacentes ao nematoide. A célula normal durante a anáfase apresenta vesículas alinhadas inicialmente entre dois núcleos filhos para formar uma nova lamela celular. Acumulados ao redor de parte da lamela foram encontrados corpos de Golgi, retículos endoplasmáticos, mitocôndrias e pequenos vacúolos. Ao contrário da mitose normal, as vesículas agregadas próximas das células da lamela foram

posteriormente dispersas, resultando no aborto da formação da nova parede celular. Yousif (1979), discutindo hipóteses sobre a formação das células gigantes, também descreveu que as mesmas são formadas por repetidas mitoses, três dias após a indução pelo nematoide, e que as células normais ao redor das células gigantes dividiam-se mais rapidamente, como resposta ao estresse sofrido pela planta hospedeira.

Huang e Maggenti (1969) demonstraram que o número de cromossomos das células gigantes de *Vicia faba* infectadas com *M. javanica* apresentaram durante a metáfase uma progressão geométrica. Eles sugeriram que as células gigantes eram formadas por repetidas endomitoses sem subsequente citocinese e consideraram que a formação de novas células gigantes não está relacionada com a dissolução de suas paredes celulares adjacentes. Em 1985, Huang sugere, enfim, que devido a evidências citológicas as células gigantes são formadas por repetidas endomitoses sem subsequente citocinese e que essas células são essenciais células de transferência passando os nutrientes aos nematoides.

Bird e Loveys (1975) e McClure (1977) sugerem a existência da relação nematoide e floema, relatando que os componentes orgânicos requeridos para o desenvolvimento do parasita são provenientes, em parte, dos produtos derivados da fotossíntese, sendo translocados para o nematoide via floema. Entretanto, Ogbuji (1976), Gravato-Nobre e Evnas (1998) e Asmus et al. (2000) relatam haver relação dos nematoides e células gigantes com os elementos de vaso do xilema.

Pela observação da frequência dos juvenis de *M. chitwoodi* em plantas de *S. tuberosum* cv. Burbank, Orion et al. (1980) evidenciaram que a resposta ao parasitismo se inicia com o incremento da densidade do protoplasma e também da sua granulação. Progressivamente, essas células aumentam de volume, tomando-se multinucleadas e altamente vacuoladas, transformando-se, posteriormente, em células gigantes, na proporção de quatro células gigantes para um nematoide. Esse conjunto de células suporta o desenvolvimento dos juvenis até sua transformação em fêmeas maduras, o que ocorre aos 30 dias após a inoculação (Orion et al., 1980). Portanto, quanto maior o número de juvenis presentes nos tecidos radiculares, maior será o número de células gigantes formadas.

A formação de galhas, células gigantes e o número destas, presentes nas raízes, podem estar correlacionadas com a densidade de parasitismo (Finley, 1981). O aumento do tamanho das células gigantes nas galhas segundo Sasanelli e Pierangeli (1994)

pode estar relacionado ao incremento do número de núcleos no decorrer do desenvolvimento dessas células, constatando a formação de 4 a 6 núcleos no espaço de 72 horas, através da constante indução pelo nematoide. Segundo Bird (1971), o núcleo aumenta em número pela ocorrência de simultâneas mitoses em uma única célula gigante, sendo estes, largos e irregulares.

As mudanças anatômicas causadas pelo parasitismo dos nematoides formadores de galhas em raízes podem levar à alteração do cilindro vascular, de formato circular para elíptico, como descrito por Farooq (1973), da absorção de água e, conseqüentemente, da absorção de nutrientes (Zimmerman e McDonough, 1978; Carneiro e Alteia, 1990, Dorhout et al., 1991; Kirkpatrick et al., 1991), como também aumento total da massa de raízes pelo efeito combinado da emissão de raízes secundárias nos locais de parasitismo e pela formação das galhas propriamente ditas (Abrão e Mazzafera, 2001).

Ferraz e Monteiro (1995) observaram que outras células menores, formadas próximas às células gigantes, são produzidas para assimilação e transferência do alimento.

As alterações na estrutura anatômica da raiz têm sido citadas para explicar a relação nematoide-hospedeiro, através da formação de células gigantes que ocasionam acentuadas modificações na faixa cambial (Andrade et al., 2003). Estudando a histopatologia de galhas induzidas por *M. naasi* em raízes de trigo, Siddiqui e Taylor (1970) verificaram a ocorrência de grande número de juvenis de segundo estágio nos tecidos radiculares, 24 horas após a inoculação. As células gigantes foram encontradas quatro a cinco dias após a inoculação e, geralmente, situavam-se ao redor da região anterior do nematoide, sendo que aos 40 dias após a inoculação observou-se a completa dissolução das paredes das células gigantes.

Descrevendo a relação parasito-hospedeiro existente entre *M. christiei* e *Quercus laevis*, Kaplan e Koevenig (1989) observaram que a penetração vinha associada a uma considerável destruição celular. As galhas eram dispostas individualmente ou em grupos (2 a 5), geralmente, com uma a duas fêmeas. Os sítios de alimentação associados a *M. christiei* eram similares aos associados com outras espécies de *Meloidogyne*, sendo compostos pelas células gigantes (hipertrofia das células parenquimáticas do floema), apresentando citoplasma granular, multinucleado, com numerosos pequenos vacúolos e com o tecido vascular

desorganizado. A restrita gama de hospedeiros deste nematoide sugere que esta relação seja altamente especializada.

Plantas de café (*C. arabica*) infectadas com *M. incognita* foram estudadas por Vovlas e Di Vito (1991) observando a presença de galhas, com células gigantes pequenas e anucleadas, e presença de regiões necrosadas ao redor da região anterior do nematoide, sugerindo, portanto, algum mecanismo de resistência a esta espécie de nematoide. As alterações anatômicas induzidas em raízes de um híbrido de milho (*Zea mays*), BR106, por *M. javanica* foram estudadas por Asmus et al. (2000). O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, inoculando-se 10.000 juvenis de segundo estágio por planta e aos 60 dias realizando a avaliação. Verificou-se nas raízes que apresentavam leves engrossamentos ou galhas, a presença de células gigantes multinucleadas associadas ao nematoide, restritas ao parênquima vascular. Mesmo com várias fêmeas maduras e massas de ovos, as galhas formadas eram inconspícuas, situando-se próximas a região apical das raízes. Algumas células do parênquima cortical apresentaram-se hipertrofiadas, havendo a obliteração de parte dos elementos de vaso do xilema e a desorganização do cilindro vascular. Observou-se ainda, elevado conteúdo protéico e paredes espessadas por substâncias pécticas nas células gigantes multinucleadas.

Castillo (2001) estudou a interação hospedeiro-patógeno entre *M. arenaria* raça 2 e amoreira branca e Di Vito et al. (2004) estudaram a relação entre *M. incognita* e espinafre. Nestes estudos os nematoides induziram a formação de galhas esféricas que geralmente continham uma ou mais fêmeas, machos, e massas de ovos com ovos. Os sítios de alimentação foram caracterizados pelo desenvolvimento das células gigantes (compostas por 3 a 8) as quais apresentaram citoplasma granular e muitos núcleos e nucléolos hipertrofiados. Os tecidos vasculares sofreram hipertrofia e hiperplasia, mostrando uma desorganização dos elementos do xilema e de células do floema primário.

A sequência do desenvolvimento das células gigantes incitadas por *M. exigua* em raízes de seringueira em oito épocas de coleta foi caracterizada por Corrêa e Rodella (2002). Os autores verificaram que o desenvolvimento das células gigantes pode ser caracterizado pelas fases do ciclo de infestação do nematoide: inicial, de equilíbrio, de eleição e final, refletindo as fases do desenvolvimento das células gigantes formadas nas raízes de seringueira. A fase inicial é constituída pela 1ª época de coleta (5 DAI), quando surgem as

células gigantes estimuladas pela presença do nematoide na raiz, podendo aumentar em quantidade, mas não em tamanho. A fase de equilíbrio é constituída pelas 2^a, 3^a e 4^a épocas de coleta (10, 15 e 20 DAI), ocorrendo o aumento do número de células gigantes e dos sítios de alimentação e um discreto aumento no tamanho da célula gigante. A fase de eleição é constituída pelas 5^a, 6^a e 7^a épocas de coleta (25, 30 e 35 DAI), apresentando aumento no tamanho da célula gigante e do sítio de alimentação, sendo que nesta fase o nematoide seleciona uma célula gigante e a estimula continuamente, enquanto as outras sem receberem o estímulo se degeneram reduzindo a quantidade de células gigantes e dos sítios de alimentação. A fase final foi constituída pela 8^a época de coleta (40 DAI), ocorrendo diminuição no tamanho das células gigantes devido à degeneração, se assemelhando com o início da infestação. Já as alterações anatômicas induzidas por *M. incognita*, raça 2, em raízes de tomateiro foram caracterizadas segundo Corrêa (2005) pela formação de células gigantes em etapas, sendo de 15-20 DAI, grande tamanho e menor quantidade de células gigantes; dos 20-25 DAI, reduzido tamanho e maior quantidade de células gigantes e dos 25-30 DAI, pelo maior tamanho e menor quantidade de células gigantes com a presença da massa de ovos.

Carneiro et al. (2005) estudaram o mecanismo de resistência de genótipos de algodoeiro a *M. incognita* raça 3 através de histopatologia comparada entre cultivar resistente e suscetível. De acordo com estudos prévios, dois cultivares foram selecionados sendo IAC96/414 o resistente e IAC98/708 o mais suscetível. Foram inoculadas seis plantas aos 25 dias de idade com 18 mil juvenis de segundo estágio de *M. incognita* raça 3 e avaliadas aos 2, 4, 6, 12, 24 e 48 dias após a inoculação. Embora os juvenis de segundo estágio tenham penetrado as raízes do genótipo resistente e suscetível, o desenvolvimento dos juvenis foi seriamente comprometido no genótipo resistente logo após a infecção. A maioria dos nematoides que penetrou o genótipo IAC96/414 falhou no estabelecimento e manutenção das células gigantes, as quais apresentaram pequeno tamanho e as paredes celulares com espessamentos secundários reduzidos, não suportando a alimentação de fêmeas normais em oviposição, resultando em baixa reprodução no genótipo resistente.

A resistência e a caracterização histológica de acessos de *Pfaffia glomerata* a *M. incognita* foram estudadas por Gomes (2006). Foram utilizados dois acessos, um altamente resistente “UFV” (MG) e um suscetível, “Farmacotécnica” (FAR). As observações histológicas das raízes infectadas suscetíveis demonstraram que os juvenis de

segundo estágio de *M. incognita* foram capazes de penetrar, nem sempre pela região de alongação, migrar e se desenvolver. Aos 4 e 6 dias após a inoculação, muitos J_2 estavam a caminho do cilindro central. Aos 10 dias, foram observados J_2 alimentados e, aos 19 dias, numerosos J_3/J_4 já tinham sítios de alimentação estabelecidos, desenvolvendo células gigantes (com número de 5 a 14) bem formadas, multinucleadas, com citoplasma denso, membranas normais e alguns vacúolos em seu interior. Tais sítios foram formados em células do parênquima pouco diferenciadas. Aos 28 dias, apareceram as primeiras fêmeas e, aos 39 dias, fêmeas bem desenvolvidas foram observadas com primórdios da matriz gelatinosa. Quanto às raízes infectadas resistentes, foram observados que dos poucos J_2 que penetraram, alguns migraram até a região do cilindro central da raiz e não conseguiram estabelecer os sítios de alimentação. Entretanto, outros J_2 conseguiram estabelecer os sítios de alimentação com células gigantes bem menores que as observadas no acesso suscetível, em menor número e mal formadas, sofrendo posteriormente ecdises e atingindo os estádios J_3/J_4 (19 dias). Aos 28 e 39 dias observaram-se os J_3/J_4 dispostos junto aos seus sítios de alimentação. As células gigantes apresentavam-se com aspecto degenerado e muito vacuolizadas. Não foi observado o estágio de fêmea, confirmando o baixíssimo fator de reprodução deste acesso.

As alterações anatômicas de raízes de cafeeiros inoculados com uma população patogênica e outra não-patogênica de *M. incognita* foram comparadas por Oliveira (2006). Neste experimento, foram avaliadas mudas de cafeeiro ‘Catuaí’ (suscetível) e ‘Apoatã’ (resistente) inoculadas com as duas populações de *M. incognita* a cada dois dias, do primeiro ao décimo dia, e a cada cinco dias, do décimo ao quadragésimo dia após a inoculação. Os resultados mostraram que a indução de células gigantes e o desenvolvimento do nematoide somente foram observados em cafeeiro ‘Catuaí’ inoculado com a população patogênica. Não foi observado nenhum indício de formação de células de alimentação em ‘Apoatã’ e nem em ‘Catuaí’ inoculados com a população não-patogênica.

Em estudo da histopatologia comparada de cultivares de soja, resistente e suscetível, a *M. paranaensis*, Moritz et al. (2008b) concluíram que em ambos os cultivares os sítios de alimentação foram formados no cilindro vascular, entretanto, no cultivar suscetível, o número de células foi significativamente superior ao encontrado no cultivar resistente. As células gigantes se desenvolveram em tecidos como floema primário e parênquima adjacente. No cultivar suscetível, essas se apresentaram multinucleadas e com

citoplasma denso; já, no cultivar resistente, essas células apresentavam-se com citoplasma denso, mas com poucos núcleos. Severas alterações nos tecidos vasculares também foram observadas ocasionando obliteração dos elementos de vaso.

Pontes et al. (2009b) avaliaram seis genótipos de melancia (92-0221, 92-0223, PI244019, 92-385 (PI-10 A) e 92-0228, pertencentes ao grupo *Citrullus lanatus* var. Citroide, e Tra 2, pertencente ao grupo *Citrullus lanatus* var. Lanatus) quanto ao número de núcleos por células gigantes e a taxa na qual eles aumentaram aos 5, 10, 15 e 20 dias após a inoculação com *Meloidogyne mayaguensis*, aferindo a fecundidade e a produção de ovos. Os genótipos 92-0221 e PI244019 apresentaram as mais baixas taxas de reprodução do nematoide e menor número de núcleos por células gigantes, confirmando a reação de resistência.

É de grande importância a realização de estudos anatômicos radiculares, pois cultivares tidos como resistentes na presença de *Meloidogyne* spp. podem apresentar a formação de células gigantes e hipertrofia de células parenquimáticas, provocando a obliteração de parte dos elementos de vaso do xilema e a desorganização total do cilindro vascular (Asmus et al., 2000; Wanderley e Santos, 2004). Segundo Marschner (1995), a resistência de plantas aos patógenos está relacionada com a anatomia dos vegetais parasitados; portanto, a prevenção contra os efeitos do nematoide ou mesmo a resistência do próprio hospedeiro pode ser revelada por alterações ou peculiaridades anatômicas do hospedeiro. Entretanto, Esau (1974) relata que o efeito causado por um parasita não pode ser completamente compreendido se a estrutura normal da planta atacada não for conhecida.

Os estudos do desenvolvimento das células gigantes e suas alterações na anatomia radicular de hospedeiros suscetíveis assumem grande importância para a compreensão dos mecanismos de parasitismo dos nematoides, bem como auxilia na colaboração da escolha de plantas a serem utilizadas no manejo de populações de nematoides e na documentação das alterações dos tecidos de raízes desses cultivares.

2.4 A espécie *Meloidogyne mayaguensis*

A espécie *M. mayaguensis* Rammah e Hirschmann foi descrita a partir de população encontrada em raízes de *Solanum melongena* oriundas da região noroeste de Porto Rico, inicialmente identificada como *M. arenaria*. Neste estudo, os nematoides

apresentaram características morfológicas, citogenéticas e bioquímicas diferentes de outras espécies de *Meloidogyne* e até mesmo de *M. arenaria*, mostrando se tratar de uma espécie nova (Rammah e Hirschmann, 1988). Apresenta ocorrência bastante frequente em vários países do continente africano: Mali, Senegal, África do Sul, Costa do Marfim. Nos continentes americanos, além do Brasil, essa espécie ocorre em Trinidad e Tobago, Cuba, Martinica, Porto Rico e EUA continental (Carneiro, 2003).

M. mayaguensis apresenta várias plantas hospedeiras, tais como, *Coffea arabica*, *Nicotiana tabacum*, *Solanum lycopersicum*, *Cucurbita* sp; assim como outros hospedeiros, que permitem uma menor reprodução desse nematoide como *Phaseolus vulgaris*, *Cannavalia ensiformis* e *Solanum tuberosum* (Rodriguez, 2000).

Perdas ocasionadas por esse nematoide foram relatadas em café, em Cuba, por Rodriguez (2003) onde, também foi constatada por meio de estudo a suscetibilidade frente a *M. mayaguensis* de um cultivar de tomateiro resistente às espécies de *Meloidogyne*, conferida pela presença do gene *Mi*.

No Brasil, Carneiro et al. (2001) assinalaram pela primeira vez a espécie *M. mayaguensis* em Petrolina (PE), Curaçá e Maniçoba (BA), causando danos severos em plantios comerciais de goiabeira (*Psidium guajava*). Esse nematoide tem alta taxa de reprodução e virulência em diferentes espécies vegetais, exigindo preocupação com sua disseminação (Carneiro et al., 2001).

Estudando cinco regiões brasileiras produtoras de goiabeira, Pereira et al. (2009) concluíram que o prejuízo direto causado por *M. mayaguensis* foi estimado em 112,7 milhões de reais até o ano de 2008.

Lima et al. (2003) mencionam a ocorrência de *M. mayaguensis* no município de São João da Barra, no Estado do Rio de Janeiro, em plantios comerciais de goiaba, instalados em áreas irrigadas e de solo arenoso (mais de 90% de areia em sua composição) e em plantas invasoras, como fedegoso (*Senna* spp.), serralha (*Emilia sonchifolia*), beldroega pequena (*Chamaesyce prostata*), urtiga (*Cnidocolus urens*) e maracujá-do-mato (*Passiflora mucronata*). Também no Rio de Janeiro, Lima et al. (2005) registraram essa espécie isolando-a em levantamento conduzido em seis áreas de Mata Atlântica, com vegetação do tipo floresta de altitude ou restinga; dos 23 isolados obtidos, 12

foram identificados, porém, apenas um correspondia à espécie *M. mayaguensis*. Segundo os mesmos autores, o fato desse nematoide ser nativo do Brasil ainda precisa ser confirmado.

Em estudos conduzidos por Medeiros et al. (2003), o meloeiro (*Cucumis melo*) e a melancia (*Citrullus lanatus* cv. Crimson Sweet) comportaram-se como bons hospedeiros de *M. mayaguensis*, com fatores de reprodução acima de 20 e 25, respectivamente.

M. mayaguensis foi relatada no Vale do Submédio do São Francisco, por Moreira et al. (2003a; 2003b) onde essa espécie se encontra amplamente disseminada, causando severos danos às goiabeiras, debilitando-as e tornando economicamente inviável seu cultivo já aos quatro anos da lavoura.

Guimarães et al. (2003) demonstraram pelo teste de parasitismo de *M. mayaguensis*, em diferentes espécies botânicas, como tomateiros (*Solanum lycopersicum* ‘Santa Cruz’ e ‘Viradouro’), feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*), caupi (*Vigna unguiculata*), milho (*Zea mays*), amendoim (*Arachis hypogaea*), *Crotalaria spectabilis* e *C. juncea*, que o feijoeiro comum ‘IPA-9’, o caupi ‘IPA-206’, a crotalaria (*C. juncea*) e os cultivares de tomateiros ‘Santa Cruz’ e ‘Viradouro’, portadores do gene *Mi*, se mostraram suscetíveis a essa espécie de nematoide das galhas. Foi verificado também em amendoim e crotalaria (*C. juncea*), o desenvolvimento pós-infecção do nematoide no interior das raízes, 45 dias após a inoculação. O amendoim apresentou grande quantidade de formas em desenvolvimento no interior das raízes, não ocorrendo, entretanto, fêmeas adultas com ovos. A *C. juncea* apresentou alto percentual de fêmeas adultas com ovos, e, portanto, não é indicada para controle por antagonismo. As demais plantas imunes, o milho e a *C. spectabilis* não apresentaram nematoides no interior das raízes.

A ocorrência de *M. mayaguensis* no município de Touros no Rio Grande do Norte foi relatada por Torres et al. (2004) parasitando goiabeira (*Psidium guajava*) ‘Paluma’, com indícios de sua introdução por mudas contaminadas oriundas da região de Petrolina. Posteriormente, Torres et al. (2005) constataram a ocorrência dessa espécie causando danos em um pomar comercial em Limoeiro do Norte no Ceará, sendo somente possível sua identificação específica por meio do perfil enzimático de alfa esterase (Est M2, Rm: 0.7, 0.9), típico de *M. mayaguensis* conforme descrito por Carneiro et al. (2001).

Em São Paulo, Carneiro et al. (2006b) detectaram *M. mayaguensis* pela primeira vez parasitando o porta-enxerto de pimentão 'Silver' e tomateiros 'Andréa' e 'Débora', resistentes a meloidoginose. Essa espécie de nematoide vem causando perdas nessas culturas em alguns municípios do Estado, como Santa Cruz do Rio Pardo e Reginópolis. Segundo estes mesmos autores, *M. mayaguensis* provavelmente seja nativo do Estado de São Paulo sendo disseminado na região por implementos agrícolas.

Goiabeiras 'Paluma' foram identificadas por Silva et al. (2006) no Distrito Irrigado dos Tabuleiros Litorâneos no Estado do Piauí, apresentando sérios problemas de deficiência mineral, bronzeamento das margens das folhas, seca de ramos, sistema radicular com presença de inúmeras galhas e, até mesmo morte de plantas, relatando após estudos da configuração perineal e perfil de esterase, a ocorrência de *M. mayaguensis* neste Estado.

Carneiro et al. (2006a) identificaram pela primeira vez, utilizando o perfil de isoenzima esterase e a configuração da região perineal, a ocorrência de *M. mayaguensis* em raízes de goiabeira no município de Santa Mariana, no Estado do Paraná. Esse nematoide também foi encontrado parasitando raízes de picão preto (*Bidens pilosa*), de abóbora (*Curcubita pepo*), de caruru amargoso (*Erechittes hieracifolius*) e de uma orquídea nativa (*Oeceoclades maculata*).

O primeiro registro da ocorrência de *M. mayaguensis* no Estado do Mato Grosso parasitando plantas de alface, pepino, pimentão e tomate cereja foi feito por Almeida et al. (2008). Também constataram a ocorrência desse nematoide em Ituverava, no Estado de São Paulo, em plantas de soja. No mesmo trabalho, os autores afirmam que é possível distinguir *M. mayaguensis* de *M. incognita* baseando-se em caracteres morfológicos e morfométricos como no padrão perineal, na morfologia da região anterior dos machos e nos valores da distância da abertura dos ductos da glândula dorsal esofagiana aos nódulos basais do estilete dos machos.

Silva et al. (2008b) assinalaram pela primeira vez *M. mayaguensis* no cultivar Paluma de goiabeira, em São Luís, no Estado do Maranhão. Em campo, observaram a ocorrência de plantas com bronzeamento das margens das folhas, deficiência mineral acentuada, além, de algumas plantas já se encontrarem mortas.

O primeiro registro da ocorrência de *M. mayaguensis* em pomares de goiaba ('Paluma' e 'Casca Dura'), em Roca Sales no Rio Grande do Sul foi feito por Gomes et

al. (2008a). As plantas apresentaram sintomas de deficiência nutricional, como amarelecimento, seca das extremidades da folha, área foliar reduzida, presença de ramos secos, sistema radicular reduzido, com poucas raízes secundárias e com muitas galhas grandes, necroses e apodrecimento de raízes, além de morte das plantas. Estes autores também citam o primeiro registro em Santa Catarina nos municípios de Rosa do Sul, Içara e Leoberto Leal, em plantas de fumo que apresentavam porte reduzido, intenso amarelecimento das folhas, raízes com elevado número de galhas, associado à presença de necrose.

Outro relato da ocorrência de *M. mayaguensis* também foi citado por Lima et al. (2007), parasitando plantas de goiabeira ‘Paluma’ com dois anos de idade, em Cristal do Norte no município de Pedro Canário, no Espírito Santo. Na ocasião, as plantas apresentavam intenso amarelecimento e bronzeamento foliar, raízes com muitas galhas de variados tamanhos sendo analisadas quanto à presença de nematoides fitoparasitos, identificando a espécie *M. mayaguensis*.

Asmus et al. (2007) fizeram o primeiro registro da ocorrência de *M. mayaguensis* no município de Novo Horizonte do Sul, no Estado do Mato Grosso do Sul, em plantas de goiabeira ‘Novo Milênio’, com um a dois anos de idade, as quais estavam com intenso amarelecimento foliar, subdesenvolvimento e com raízes repletas de galhas.

O estudo do comportamento de sete variedades de café (Obatã 1669-20 IAC, IAC Apoatã 2258 (*Coffea canephora*), Catuaí Amarelo IAC 62, IAC 99 Catuaí Vermelho, Catuaí Amarelo 17/02, Catuaí Vermelho 20/15 e Mundo Novo IAC 379-19) a *Meloidogyne mayaguensis* foi realizado por Alves et al. (2009). Uma suspensão contendo aproximadamente 4.000 ovos e J₂ foi aplicada em plantas jovens de café e após 240 dias todos os estádios do nematoide foram recuperados dessas raízes de café e foi calculado o fator de reprodução. Os resultados mostraram que todas os cultivares de café testados tiveram FR < 1 e, portanto, não são hospedeiros de *Meloidogyne mayaguensis*.

Mudas de tomateiro industrial foram avaliadas por Pinheiro et al. (2009a) quanto à resistência ao nematoide das galhas. As mudas foram inoculadas com 6.000 ovos de uma mistura populacional de *M. incognita* e *M. javanica* e com 6.000 ovos de *M. mayaguensis* (este, isoladamente). Aos 45 dias após a inoculação, as raízes de cada planta foram avaliadas quanto ao fator de reprodução. Os resultados obtidos mostraram que para a mistura populacional de *M. incognita* / *M. javanica* observou-se menor fator de reprodução

nas linhagens: 512(OP)Mi, 512(OP)PST, 548(OP)Mi, 629(F7)Mi, 639(F8)Mi e 634(F7). Menores valores para esta variável em relação à *M. mayaguensis* foram verificados nas linhagens 512(OP)Mi, 548(OP)Mi, 562(F8)Mi, 629(F7)Mi, 633(F8)Mi, 639(F8)Mi, 640(F7)Mi, 641(F8)Mi, 512(OP)PST, 523(OP), 528(F9), 536(F9), 551(F8), 552(F8), 569(F8), 571(F8), 609(F7). Pinheiro et al. (2009b) estudaram o comportamento de 56 genótipos de *Capsicum* do programa de melhoramento da Embrapa Hortaliças para resistência a *M. mayaguensis*. A inoculação foi realizada com 5.000 ovos de *M. mayaguensis*/planta e 84 dias após a inoculação os genótipos foram avaliados quanto ao índice de galhas e de massa de ovos. Os genótipos CNPH 0060, CNPH 0578, CNPH 3454, CNPH 3272 e CNPH 4159 apresentaram menor índice de galhas e de massa de ovos para *M. mayaguensis*.

A reação de genótipos de milho a *M. mayaguensis* foi avaliada por Dias et al. (2009) em casa de vegetação. Cada planta foi inoculada com 5.000 ovos e a avaliação aconteceu aos 60 dias após a inoculação e consistiu em determinar o fator de reprodução (FR) do nematoide em cada um dos genótipos. Os resultados mostraram que os fatores de reprodução variaram de 0,3 a 13,8 e de 0,3 a 3,2, nos primeiro e segundo experimentos, respectivamente. De 37 genótipos de milho avaliados, apenas seis ('NB 7361', 'SHS 5080', 'GNX 1020', 'GNX 3010', 'BRS 1031' e 'BM 1115') comportaram-se como resistentes a *M. mayaguensis*.

A reação de sete acessos de maracujazeiro (*Passiflora setacea*, *P. coccinea*, *P. nitida*, híbrido interespecífico das espécies *P. coccinea* x *P. setacea*- 'Estrela do cerrado', *P. edulis* f. *flavicarpa*- 'Vermelhinho pequeno', *P. edulis* f. *flavicarpa*- GA2, *P. edulis* f. *flavicarpa*- EC2) a *M. mayaguensis* foi avaliada por Silva et al. (2009). As mudas de cada acesso foram inoculadas com 5.000 ovos/planta e cultivadas em vasos contendo três litros de solo. Após três meses, o índice do número de galhas radiculares, massas de ovos, densidade de população final e fator de reprodução foram determinados. O índice de galhas dos diferentes acessos variou de 0,0 a 2,5, o índice de massa de ovos variou de 0 a 1 e o fator de reprodução foi menor que 1,0 (FR < 1,0). Todos os acessos testados foram resistentes a *M. mayaguensis* e podem ser utilizados em programas de rotação de culturas em campos que foram anteriormente infestados por *M. mayaguensis*.

Sousa et al. (2009) estudaram acessos de *Psidium* spp. e *Acca sellowiana*. Os acessos foram inoculados com 5.000 ovos de *M. mayaguensis*/planta e

avaliados oito meses após a inoculação quanto a resistência ou suscetibilidade pelo fator de reprodução (FR). Todos os 39 acessos de *P. guajava* foram altamente suscetíveis a *M. mayaguensis*. *A. sellowiana*, um acesso de *P. guineensis* e *P. cattleyanum* foram considerados imunes ao nematoide com fator de reprodução igual a zero (FR = 0,0).

De acordo com Carneiro et al. (2006b), plantas infectadas apresentam aspecto clorótico, diminuição no crescimento e uma conseqüente redução na qualidade e quantidade de frutos. Sistemas radiculares severamente infectados pelo nematoide apresentam menor desenvolvimento e deformações, pela presença de um grande número de galhas e ausência de raízes finas, o que também foi verificado por outros autores.

Estudando a caracterização nutricional (teores foliares de macro e micronutrientes) de goiabeiras parasitadas por *M. mayaguensis* em São João da Barra (RJ), Gomes et al. (2008b) observaram que os sintomas de bronzeamento, amarelecimento, queima dos bordos e queda das folhas estavam associados à carência de nitrogênio, fósforo e potássio. Observaram também, que as plantas apresentaram menor absorção de cálcio e magnésio e acúmulo de manganês (não atingindo níveis fitotóxicos). Com isso, concluíram que a realização de adubações orgânicas e minerais é possível, aumentando a produtividade e minimizando os prejuízos sofridos pelos produtores, promovendo o retardamento do declínio das plantas infestadas por *M. mayaguensis*.

Estudos preliminares conduzidos por Cantu et al. (2009), no Setor de Horticultura da FCA/UNESP – Botucatu, SP, demonstraram a suscetibilidade de diferentes porta-enxertos de tomateiro com gene *Mi* a *M. mayaguensis*. Os porta-enxertos testados foram: ‘Guardião’, ‘Helper M’, ‘Anchor-T’, ‘Dr. K’, ‘Kagemuscha’, ‘TMA 809’, ‘Magnet’ e ‘He-Man’. Aos 60 dias após a inoculação foram avaliados os índices de galhas e massas de ovos, número de nematoides no solo e na raiz, peso do sistema radicular e o fator de reprodução de *M. mayaguensis*. De acordo com os resultados todos os porta-enxertos de tomateiro estudados permitiram altas taxas de multiplicação de *M. mayaguensis*, variando de 11,34 (TMA-804) a 18,21 (Dr. K).

2.5 Características gerais do tomateiro

A espécie cultivada *Solanum lycopersicum* L. sinon. *Lycopersicon*

esculentum Mill., originou-se da espécie andina e silvestre *Solanum lycopersicum* (*Lycopersicon esculentum*) var. *Cerasiforme* (Dunal) A. Gray.

O tomateiro pertence à família botânica Solanaceae e ao gênero *Solanum*, sendo este gênero constituído por nove espécies, dividido em dois complexos: o *esculentum*, que engloba: *Solanum lycopersicum*, *L. pimpinelifolium* (Jusl.) Mill., *L. cheesmani* Riley, *L. hirsutum* Humb. e Bonpl., *L. pennellii* (Corr) D'Arcy., *L. chmielewskii* Rick, Kes., Fob e Holle, *L. parviflorum* Rick, Kes., Fob e Holle e o complexo *peruvianum*, composto de duas espécies: *Solanum peruvianum* (*Lycopersicon peruvianum* (L) Mill.) e *L. chilense* Dun (Taylor, 1986).

O tomateiro é originário da América do Sul, mais especificamente entre o Equador e o norte do Chile, encontrando-se muitas espécies desde o litoral do Pacífico até uma altitude de 2.000 m nos Andes, sendo, portanto uma planta de clima tropical de altitude que se adapta a quase todos os tipos de climas, porém não tolerando temperaturas extremas (Goto, 1995). O habitat natural é altamente diversificado, isolado e de difícil acesso. A geografia diversificada da área contribui para a variabilidade do gênero (Warnock, 1991). Seu centro de domesticação é no México.

É uma planta herbácea, com folhas pecioladas, compostas e com número ímpar de folíolos, com caule flexível com abundância em brotações laterais (Filgueira, 2000). Possui o hábito de crescimento indeterminado, existindo também cultivares de crescimento determinado. As plantas são tipicamente autógamas, com baixa porcentagem de polinização cruzada, que quando ocorre é resultado da ação de insetos polinizadores (Giordano e Silva, 2000). Os frutos são classificados em cinco grupos: Santa Cruz, Industrial, Salada, Saladinha e Cereja.

Segundo Silva e Giordano (2000), o tomateiro é uma das hortaliças mais exigentes quanto à adubação, apresentando demandas nutricionais diferenciadas com os estádios de desenvolvimento, com o ciclo de cultivo (curto, médio e longo), com o genótipo e com a época do ano.

Atualmente, é uma das principais olerícolas de valor econômico no mundo, sendo a segunda solanácea mais cultivada, superada apenas pela batata (Abreu, 2006). No Brasil, foi introduzido por imigrantes europeus no fim do século XIX (Cançado Júnior et al., 2003). Desde então, o seu cultivo consolidou-se, tornando-se a hortaliça de fruto mais

importante do país, a ponto de ocupar o primeiro lugar em valor e volume de produção (Schmidt, 2000).

O tomate é uma hortaliça de elevada importância socioeconômica. Além de suas propriedades alimentícias substancialmente benéficas para a saúde humana, a cultura é reconhecida como poderosa fonte geradora de emprego e renda em todos os segmentos de sua cadeia produtiva (Silva e Giordano, 2000), ganhando importância maior com o crescimento dos grandes centros urbanos do país e o rápido desenvolvimento da indústria brasileira (Aragão, 1998). Do ponto de vista nutricional, os tomates se revelam um alimento importante na medida em que contêm, em função das variedades, de 15 a 17 dos 20 aminoácidos essenciais à elaboração das proteínas (Kokopelli Seed Foundation, 2007).

O tomateiro ocupa lugar de destaque entre as hortaliças cultivadas, estando o Brasil entre os dez países com maior produção. A safra de tomate de 2009 está estimada em 4.214.372 toneladas colhidas em uma área de 64.554 ha, com produtividade média de 65.284 kg/ha conforme o levantamento sistemático de produção agrícola (IBGE, 2009). Os principais estados produtores são Goiás, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Bahia, Pernambuco e Paraná.

A maior área cultivada com tomate industrial está na região Centro-oeste, onde o clima seco durante os meses de março a setembro favorece seu cultivo. Os solos profundos, bem drenados e a topografia plana facilitam a mecanização e permitem o uso de grandes sistemas de irrigação (Silva, 2003).

O aumento da área de cultivo dessa solanácea favoreceu o desenvolvimento de pragas e doenças, afetando a produção. A estreita base genética do tomateiro cultivado também é parte responsável pela sua suscetibilidade ao elevado número de pragas e doenças (Aragão, 1998).

Para o adequado desenvolvimento da cultura, seja no crescimento, produção ou na qualidade de fruto, os manejos fitossanitário e nutricional são fatores de fundamental importância (Feltrin et al., 2005). Essa cultura é uma das mais difíceis de ser conduzida em condições de campo, pois é afetada por diversos insetos, ácaros, e doenças (Minami e Haag 1989; Latorre et al., 1990), sendo considerada uma das mais suscetíveis aos nematoides formadores de galhas, sobretudo em condições de cultivo protegido, sendo que o

aumento de temperatura e os cultivos sucessivos propiciam o aumento mais rápido das populações do parasito (Carneiro e Moraes, 1993).

Segundo Taylor (1986), estudos foram realizados no intuito de incorporar a resistência à cultura do tomateiro a pragas e doenças de grande importância, através do cruzamento com espécies selvagens resistentes, como o acesso *L. hirsutum* var. *Glabarum* Mill. PI 134417, que por sua vez, se destaca por ser resistente e diferente de outras fontes de resistência, além de ser autocompatível e cruzar facilmente com *S. lycopersicon*.

2.6 Aspectos da resistência de tomateiros à Meloidoginose

Ainda que os nematoides das galhas tenham uma ampla gama de hospedeiros, a resistência tem sido descrita em muitas espécies de plantas (Dropkin, 1969; Fassuliotis, 1987; Roberts, 1995). Webber e Orton (1902) foram os primeiros a descrever a resistência de plantas a nematoide em raízes de caupi, variedade Iron, baseando na redução de galhas em talhões de lavouras. Barrons (1939) estudando os mecanismos de resistência a nematoides em raízes de cafeeiros, observou que a resistência não é a inibição da penetração do nematoide na raiz e que a secreção de substâncias químicas, inibidoras, impediriam a ação de substâncias excretadas na saliva dos nematoides que induziriam a formação de células gigantes.

As plantas são definidas como resistentes quando elas não permitem a reprodução dos nematoides (Trudgill, 1991) e como suscetíveis, quando permitem o desenvolvimento normal do nematoide com uma alta reprodução (Roberts, 2002).

Podem ser observados dois tipos de resistência: pré-infectiva e pós-infectiva. De acordo com Rhode (1972), a resistência pré-infectiva ocorre antes da penetração do nematoide na superfície das raízes e está associada à produção de exsudatos radiculares que repelem os juvenis de segundo estágio ou são tóxicos a eles. A resistência pós-infectiva se manifesta após a penetração dos tecidos da planta, sendo determinada pela reação entre parasita e hospedeiro (Wallace, 1973).

Diferentes termos são utilizados, entre eles virulência, que é a habilidade do nematoide em se reproduzir na planta hospedeira, que possui um ou mais genes de resistência. Nematoides virulentos são capazes de se reproduzir em plantas resistentes, e

nematoides não virulentos não são capazes de se reproduzir na presença de genes específicos. A maior parte dos programas visando a obtenção de cultivares e porta-enxertos resistentes tem utilizado em geral apenas um gene de resistência principal. Geralmente, esse tipo de resistência é facilmente identificada e para incorporá-la, recorre-se a programas de retrocruzamento ou pedigree, utilizando técnicas convencionais de cruzamento (Roberts, 2002).

Provavelmente o mais usado e investigado gene de resistência aos nematoides das galhas é o gene *Mi*, em tomate (Hussey e Janssen, 2002). O gene *Mi* foi descrito por Smith em 1944 e tem sido usado há mais de 60 anos. É um único gene dominante localizado no cromossomo 6, oriundo de espécies de tomateiros selvagens *S. peruvianum* e está presente em muitos cultivares modernos de tomateiro. É efetivo contra *M. incognita*, *M. arenaria* e *M. javanica*, entretanto, a resistência é quebrada em temperaturas superiores a 28°C (Hussey e Janssen, 2002). Este gene tem sido um excelente exemplo do uso de hospedeiros resistentes para reduzir efetivamente a necessidade da aplicação de pesticidas (Medina-Filho e Stevens, 1980; Roberts et al., 1986).

Estudos têm fornecido informações sobre o mecanismo de resistência ligado ao gene *Mi*. Os nematoides são atraídos, penetram as raízes e migram em direção ao cilindro vascular, de maneira semelhante em plantas resistentes e suscetíveis. Entretanto, em plantas resistentes, não ocorre o desenvolvimento do sítio de alimentação. Ao invés disso, desenvolve ao redor da região anterior dos juvenis de segundo estágio (J_2), que penetraram ou, próximo ao sítio onde as células de alimentação poderiam ser incitadas, uma localizada região de células necróticas, também chamada de reação de hipersensibilidade (RH) (Dropkin, 1969; Ho et al., 1992; Paulson e Webster, 1972). Os J_2 falham no estabelecimento do sítio de alimentação e, conseqüentemente, ou morrem ou abandonam a raiz. As primeiras indicações visíveis das RH ocorrem 12 h após a inoculação da raiz com os J_2 (Paulson e Webster, 1972).

Vários autores descrevem a RH como uma reação local, acompanhada pela produção ou liberação de formas de oxigênio reativo, ácido salicílico e/ou compostos fenólicos, ou outros compostos envolvidos no caminho da sinalização extracelular. A ativação de genes de defesa, alterações estruturais (espessamento de paredes celulares) e síntese de fitoalexinas sintéticas também podem ser frequentemente observadas. Estes fenômenos ocorrem no local da infecção, poucos minutos após a penetração (Pegard et al., 2005).

A resistência na interação planta-patógeno está associada a uma necrose na qual um número limitado de células da planta em contato direto com o nematoide morre rapidamente. Provavelmente, a necrose seja uma consequência e não uma causa da resposta da planta resistente ao patógeno incompatível. A reação de hipersensibilidade constitui um dos mecanismos primários de resistência (Zacheo et al., 1997).

A RH pode inibir ou impedir o desenvolvimento do patógeno, mas, pode consequentemente ativar outras respostas de defesa. Por exemplo, a enzima fenilalanina amônia-liase, que é induzida rapidamente numa resposta de resistência a muitos outros patógenos, é aumentada em tomateiros resistentes 12 horas após a inoculação do nematoide (Brueske, 1980). A ausência ou presença de RH, não determina que um outro mecanismo qualitativo de resistência exista, isto porque todos os genes de resistência iniciam respostas que possam resultar em RH, mas, algumas respostas podem prevenir doenças tão eficientemente que a morte celular não é ativada (Kosack-Hammond e Jones, 1996).

Resistência mediada pelo gene *Mi* é perdida em temperaturas acima de 28°C (Dropkin, 1969). A perda de resistência genética à *M. mayaguensis* não está ligada ao aumento de temperatura do solo, como ocorre para outras espécies de *Meloidogyne* spp. A capacidade de vencer a resistência genética é característica intrínseca dessa espécie e já foi verificada em temperaturas de 24 a 28°C (Prot, 1984; Luc e Reversat, 1985). Foi verificado que o isolado de *Meloidogyne mayaguensis* originado da Flórida reproduziu-se em genótipos de tomateiros com gene *Mi* em experimentos conduzidos em diferentes temperaturas (Brito et al., 2004).

Plantas com o gene *Mi* inoculadas e mantidas em temperatura restrita (32°C) por 2 dias, e fixadas a uma temperatura permitida (27°C) por 1 mês, mostram-se com abundantes galhas e ovos. Este e outros experimentos sobre alternância de temperaturas indicaram que a determinação da resistência ocorre durante as primeiras 24-48 horas após a infecção, e que, uma vez que esse período tenha passado, a resistência não é provocada, mesmo que na temperatura permitida. Brown et al. (1997) demonstraram em seus estudos que o gene *Mi* foi efetivo contra alguns, mas não contra todos os isolados de *M. chitwoodi*. Embora o gene *Mi* não seja efetivo contra *M. hapla*, a taxa reprodutiva em linhagens quase isogênicas, que diferem apenas quanto à presença do *Mi*, foi menor nas plantas portadoras desse gene.

Devido à contínua busca por outros genes de resistência aos nematoides das galhas, alguns foram encontrados no complexo *S. peruvianum*. Os novos genes *Mi*, descritos como *Mi-2* a *Mi-8*, expressam diferentes espectros de efetividade aos isolados de *Meloidogyne* spp., bem como a sensibilidade ao calor (Yaghoobi et al., 1995; Veremis e Roberts, 1996; Williamson, 1998).

Sendo o modo de reprodução da maioria das espécies do gênero *Meloidogyne* por partenogênese mitótica, estas, teoricamente, teriam como progênies clones. O polimorfismo genômico entre linhas avirulentas e virulentas de *M. incognita* não pode ser explicada pelo clássico mecanismo de recombinação. A recente emergência de novos biótipos virulentos, capazes de quebrar a resistência genética de algumas plantas, indica que a variabilidade existe nestes organismos, o que tem importantes conseqüências na manutenção e durabilidade natural da resistência das plantas no campo. Para explicar a variabilidade genética nesse gênero, experimentos recentes resultaram na clonagem de formas diferentes do gene *map-1*, sugerindo que o mesmo pode estar localizado numa região instável do cromossomo onde os eventos de amplificação/deleção podem ocorrer, resultando na variabilidade observada (Castagnone-Sereno, 2002).

Em estudo realizado por Anthony et al. (2005) a resposta à infecção por *M. exigua* de um cultivar suscetível de cafeeiro (Caturra) foi comparada histologicamente com a do cultivar Iapar 59, possuidor do recentemente identificado gene de resistência *Mex-1*. A penetração e o desenvolvimento do nematoide no cultivar resistente foram menores em comparação com o suscetível. Várias estruturas celulares, incluindo citoplasma corado de escuro e estruturas alteradas de organelas, foram observadas no cultivar resistente, indicando uma reação de hipersensibilidade junto a pequenos sítios de alimentação como resposta às infestações nas células hospedeiras. Enquanto as células gigantes incitadas no cultivar suscetível foram facilmente reconhecidas pelo seu aumento de tamanho, presença de vários núcleos e um grande vacúolo. Entretanto, a relação entre a RH e a posterior ativação de respostas de defesa em cafeeiros não são muito claras e precisam ser investigadas em outros cultivares resistentes de café.

Estudando a base genética do tomateiro Jacquet et al. (2005) observou um maior efeito nas variações da reprodução do nematoide, especialmente quando os genótipos de tomateiro eram heterozigotos ao gene *Mi*. Isso ocorre, pois vários cultivares

modernos de tomateiros são híbridos F_1 , com o *Mi* em condições de heterozigose, podendo promover a seleção de biótipos virulentos de *M. incognita* em condições de campo. Os resultados obtidos explicam o fato de alguns nematoides reproduzirem em plantas resistentes, o que é um ponto de início necessário para o desenvolvimento de populações virulentas. Portanto, esse resultado é gerador de importantes conseqüências em termos de estratégias de reprodução e durabilidade da resistência conferida pelo gene *Mi*.

Maleita et al. (2009) estudaram a habilidade de *M. hispanica* se reproduzir em genótipos de tomate. Dez genótipos de tomate heterozigotos (Mimi), dez homozigotos (MiMi) no locus *Mi* e seis sem o gene de resistência aos nematoides das galhas foram identificados. As plantas foram avaliadas 60 dias após a inoculação com 5.000 ovos e juvenis de segundo estágio com base no índice de galhas (IG) e fator de reprodução (FR). Apenas o genótipo Rapit (Mimi) foi considerado hipersensível, o nematoide induziu galhas nas raízes (IG>2), mas não conseguiu completar seu ciclo, com FR<1. Os valores de FR de *M. hispanica* para os outros genótipos MiMi, Mimi and mimi foram mais que um, indicando serem bons hospedeiros ao nematoide. No entanto, a reprodução do nematoide foi maior em genótipos sem o gene *Mi* e em heterozigotos do que em genótipos homozigotos. Com isso, conclui-se que os tomateiros que possuem o gene *Mi* são suscetíveis a *M. hispanica* limitando seu uso no manejo deste nematoide.

Avaliando a resistência a três espécies de *Meloidogyne* (*M. javanica*, *M. arenaria* e *M. incognita*) e presença do gene *Mi* em acessos crioulos e cultivares comerciais de tomateiros no Sul do Brasil, Carelli et al. (2004) obtiveram como resultado que dos 35 acessos testados, 33 foram suscetíveis às três espécies de *Meloidogyne* avaliadas. Um dos cultivares, 'Polka Baixo', foi resistente às três espécies, e o cultivar Gaúcho apresentou resistência a *M. incognita*. A avaliação utilizando o PCR dos genes *Mi* mostrou que o gene *Mi* 1.2 está presente unicamente no cultivar resistente 'Polka Baixo', enquanto que o gene *Mi* 1.1 está presente neste cultivar e em outros 26 acessos avaliados. Estes dados confirmam o gene *Mi* 1.2 como sendo responsável pela resistência a *Meloidogyne* em tomate e a ineficiência do gene *Mi* 1.1, bem como a presença de mais de um gene da família *Mi* num mesmo acesso de tomate. A ausência do gene *Mi* 1.2 no cultivar Gaúcho resistente a *M. incognita* pode ser aceita como indicativo da existência de outros genes envolvidos na resistência a nematoides das galhas em *S. lycopersicon*.

Silva et al. (2008a) estudaram o efeito do gene *Mi* na reprodução de duas populações de *M. exigua*, que diferem quanto à capacidade de parasitar o tomateiro, sendo, uma delas com capacidade de se reproduzir (Me-m) e a outra sem essa habilidade (Me-c). A população Me-c não foi capaz de induzir a formação de galhas e de se reproduzir nos cultivares de tomateiro, enquanto que a população Me-m apresentou alta taxa reprodutiva, independente da presença do gene *Mi* (Motelle, 44,7% - com resistência e Moneymaker, 51,2% - sem resistência), e, com isso, concluíram que o gene *Mi* não foi efetivo contra *M. exigua*.

O gene *Mi-1* também mede resistência a organismos distintos dos nematoides, como o pulgão da batata, *Macrosiphum euphorbiae* (Rossi et al., 1998), e a mosca branca, *Bemisia tabaci* (Nombela et al., 2003).

Cultivares de tomateiro, um resistente ('Motelle') e outro suscetível ('Moneymaker') foram estudados por Schaf et al. (2007) durante o período da infecção pela espécie de nematoide das galhas *Mi*-suscetível *M. incognita* e *Mi*-resistente *M. hapla*. Na ausência da infecção pelo nematoide, um único gene regulador, codificando uma glicosiltransferase foi detectado. Foram identificados diferentes genes de regulação entre os tecidos da raiz infectados e não infectados durante alguns estágios da infecção. Foram descobertos 217 genes reguladores durante o período de infecção, correspondendo ao estabelecimento do sítio de alimentação, e 58 genes que exibiram regulação diferente nas raízes resistentes comparadas às raízes não infectadas, incluindo a glicosiltransferase. As glicosiltransferases são necessárias para a resistência aos nematoides das galhas em tomate, cuja interação tipicamente resulta em reação de hipersensibilidade, sugerindo o modo de ação através das espécies de plantas, como uma defesa a diferentes patógenos.

Com isso, dois dos principais elementos para a compreensão dos mecanismos do processo de parasitismo de *Meloidogyne* spp. em tomateiros são os estudos da sua biologia e das alterações anatômicas por elas causadas. Portanto, o objetivo do trabalho foi estudar o ciclo biológico e a histopatologia de *M. mayaguensis* em porta-enxertos de tomateiros resistentes a meloidoginose e compará-los com os aspectos biológicos e histopatológicos de *Meloidogyne javanica* nas mesmas plantas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de execução do experimento

O estudo do ciclo biológico dos nematoides *M. mayaguensis* e *M. javanica* foi desenvolvido no Setor de Defesa Fitossanitária do Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP.

O estudo das alterações histopatológicas causadas por *M. mayaguensis* e *M. javanica*, em raízes de tomateiro, foi realizado no Laboratório de Anatomia Vegetal, do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP.

3.2 Preparo e condução das plantas

Os porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ e ‘Helper M’ foram obtidos a partir de sementes cedidas, respectivamente, pelas Empresas Sakata e Takii. Estas foram semeadas em bandejas de isopor com substrato esterilizado e aos 14 dias após a germinação foram transplantadas para o recipiente definitivo, em copos plásticos de 500 mL contendo substrato de solo, areia e matéria orgânica (1:2:1), previamente autoclavados.

Aos 17 dias após a inoculação com os nematoides foi aplicado o acaricida de contato Envidor® (30 mL de produto comercial/100 L de água) para o controle do ácaro do bronzeamento (*Aculops lycopersici*).

3.3 Origem e multiplicação do inóculo

A população de *M. mayaguensis* utilizada para a realização do trabalho foi obtida a partir de cultivo de pimentão ‘Silver’ de Campos Novos Paulista, SP, e a população de *M. javanica* foi obtida de raízes de pimentão ‘Magali’, proveniente do município de Santa Rosa, RS. Ambas foram identificadas pelo padrão perineal das fêmeas e pelo padrão eletroforético de isoenzimas (Carneiro e Almeida, 2001), no Laboratório da EMBRAPA - Recursos Genéticos e Biotecnologia, em Brasília.

As populações foram multiplicadas em raízes de tomateiro ‘Rutgers’ e mantidas em casa de vegetação (reguladas para não exceder 30°C), localizada nas dependências do Setor de Defesa Fitossanitária do Departamento de Produção Vegetal da FCA-UNESP.

3.4 Preparo do inóculo e inoculação das plantas

As suspensões de juvenis infectantes utilizadas como inóculo foram obtidas de raízes de tomateiro ‘Rutgers’ altamente infectadas, processadas de acordo com a técnica proposta por Hussey e Baker (1973) e modificada por Bonetti e Ferraz (1981). De acordo com este procedimento, as raízes foram lavadas, cortadas em pedaços de dois centímetros de comprimento e trituradas no liquidificador, em baixa velocidade com hipoclorito de sódio 0,5%, durante aproximadamente 30 segundos.

O triturado foi passado por peneiras granulométricas, de abertura de malha 20 mesh (850 µm), 80 mesh (180 µm) e 500 mesh (25 µm). Os ovos foram retirados da peneira de 25 µm e recolhidos em béquer, com auxílio de pisseta.

A suspensão resultante foi vertida em aparato de Baermann modificado para recipiente raso (Southey, 1986) e colocada em estufa incubadora do tipo B.O.D., à temperatura de 30°C, por três dias, para eclosão dos juvenis de segundo estágio (J₂).

Após a primeira hora da instalação das câmaras de eclosão, a suspensão obtida foi recolhida e descartada para evitar a inclusão dos J₂ eclodidos durante o processo de extração. Os J₂ utilizados no experimento foram então recolhidos às 24, 48 e 72

horas após a montagem das câmaras de eclosão e ao fim desse período, foi determinado o número médio de J_2 na suspensão, com auxílio da Lâmina de Peters.

A infestação do substrato presente nos copos plásticos foi feita com aproximadamente 500 J_2 /volume padronizado de suspensão, ou seja, com 4 mL, em quatro orifícios equidistantes com 3 cm de profundidade ao redor das plantas. Esta, foi efetuada uma semana após o transplante dos porta-enxertos estudados. Posteriormente, essas plantas foram mantidas em B.O.D. à 26°C, com fotoperíodo de 12hs de claro/12hs de escuro.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, constituído para o estudo do ciclo biológico de 20 tratamentos (dois porta-enxertos de tomateiro, 'Magnet e Helper M'; duas espécies de nematoides das galhas, *M. mayaguensis* e *M. javanica*; e 5 épocas de coleta, 3 DAI, 10 DAI, 17 DAI, 24 DAI e 31 DAI), com cinco repetições. Para o estudo da histopatologia foram 12 tratamentos (dois porta-enxertos de tomateiro, 'Magnet e Helper M'; duas espécies de nematoides das galhas, *M. mayaguensis* e *M. javanica*; e 3 épocas de coleta, 10 DAI, 17 DAI e 24 DAI), com três repetições. Cada parcela foi constituída pelo sistema radicular de uma planta dividido ao meio.

3.5 Épocas de coleta

Foram realizadas cinco coletas no total, após a inoculação das raízes com os nematoides, sendo feita a primeira coleta (época 1) aos 3 DAI (dias após a inoculação), a segunda (época 2) aos 10 DAI, a terceira (época 3) aos 17 DAI, a quarta (época 4) aos 24 DAI e a quinta (época 5) aos 31 DAI.

Para cada época de coleta, foram retiradas ao acaso, cinco parcelas. As plantas tiveram as partes aéreas descartadas e os sistemas radiculares, após serem cuidadosamente lavados, foram secados em papel absorvente, pesados e separados em duas porções, para se proceder os estudos do ciclo biológico dos nematoides e das alterações histopatológicas.

3.5.1 Ciclo biológico de *M. mayaguensis* em raízes de tomateiros

As raízes inoculadas foram submetidas à coloração com fucsina ácida

e dissecadas sob microscópio estereoscópico para a localização dos diferentes estádios de desenvolvimento de *M. mayaguensis* ou *M. javanica* presentes nas raízes.

Preparações microscópicas foram feitas em meio de glicerina em lâminas de vidro, para posterior observação ao microscópio de luz, classificação dos estádios de desenvolvimento dos nematoides, segundo Triantaphyllou e Hirschmann (1960) e Siddiqi e Taylor (1970), bem como a contagem dos referidos estádios de desenvolvimento: Juvenil de segundo estágio infestante, sem alteração de forma (J_{2a}); Juvenil de segundo estágio em forma de salsicha (J_{2b}); Juvenil de terceiro estágio, após a segunda ecdise, com resquícios de cauda, sem estilete e dentro de 2 cutículas (J₃); Juvenil de quarto estágio, após a terceira ecdise, sem estilete, sem cauda e dentro de 3 cutículas (J₄); Fêmea jovem, após a quarta ecdise, sem ovos (F₁); Fêmea com massa de ovos (F₂) e Machos (M).

3.5.2 Histopatologia de *M. mayaguensis* em tomateiros

Segmentos de 0,5-1,0 cm de comprimento das raízes infectadas foram amostrados nas regiões mediana e apical, e fixados em solução de FAA 50 (formol + ácido acético + álcool 50%) por 48 horas e depois conservados em álcool 70% (Johansen, 1940). Posteriormente, esses segmentos foram submetidos à inclusão em historresina (resina metacrilato), de acordo com a técnica descrita por Gerrits (1991), sendo desidratados em série alcoólica, isto é, em etanol 70% por 2 horas e em etanol 100% por 2 horas, sendo, a seguir, realizada uma pré-infiltração em etanol 100% p.a. mais resina líquida (1:1) por 4 horas, seguida da infiltração em resina líquida mais pó ativador por no mínimo 24 horas. Os segmentos foram dispostos em moldes plásticos (histomoldes) com solução de polimerização e deixados em dessecador por 24 horas, para não absorver umidade; em seguida, foram colados em blocos de madeira com cola “Araldite”, seccionados transversalmente em micrótopo rotatório Leica 2155, com aproximadamente 8 µm de espessura.

Os cortes obtidos foram corados com Floxina B por 15 minutos (Taylor e Sasser, 1978) e com Azul de Toluidina 0,05% em tampão acetato pH 4,7 por 3 minutos (O’Brien et al., 1964), sendo montados entre lâminas e lamínulas com resina sintética (“Permout”).

As observações anatômicas das raízes foram feitas com auxílio de microscópio de luz e os aspectos mais relevantes foram fotografados em fotomicroscópio Olympus acoplado com câmera digital.

3.6 Análise dos resultados

O número de indivíduos dos diferentes estádios de desenvolvimento das espécies de nematoides foi contado nas cinco épocas de coleta (3, 10, 17, 24 e 31 DAI), e a duração dos ciclos biológicos determinada, ambos para cada porta-enxerto de tomateiro. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias após serem transformadas em $\sqrt{(x+0,5)}$ foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa Sisvar (Ferreira, 2003).

A análise quantitativa da anatomia radicular dos porta-enxertos 'Magnet' e 'Helper M' de tomateiro, inoculados com *M. mayaguensis* e *M. javanica*, foi realizada apenas em três diferentes épocas de coleta: aos 10 DAI (época 2), aos 17 DAI (época 3) e aos 24 DAI (época 4).

Para se proceder à quantificação anatômica, os limites e contornos dos tecidos e das estruturas presentes na raiz foram desenhados com auxílio de microscópio de projeção e suas respectivas áreas foram mensuradas por meio de mesa digitalizadora apresentando programa computacional específico (Souza et al., 2005). Foram determinadas as áreas da seção total da raiz, do conjunto epiderme e córtex, do cilindro vascular, do sitio de alimentação e da célula gigante, bem como foram efetuadas as contagens dos números de sítios de alimentação e de células gigantes.

Os dados obtidos, em três repetições, foram submetidos aos testes estatísticos multivariados de Análise de Agrupamento e Análise de Componentes Principais (Sneath e Sokal, 1973) utilizando o programa computacional NTSYS, procurando-se relacionar as estruturas anatômicas ocorrentes nos diferentes tratamentos, ou seja, porta-enxertos de tomateiro, espécies de nematoides e épocas de coleta, com a resistência a meloidoginose.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ciclo biológico de *Meloidogyne mayaguensis* em raízes de tomateiro

Os resultados obtidos no estudo da biologia de *M. mayaguensis* em comparação ao de *M. javanica* estão apresentados nas Figuras 1 a 5 e nas Tabelas 1 a 7.

Aos três dias após a inoculação (DAI) (Figura 1), foram encontrados apenas juvenis de segundo estágio (J_{2a}) de *M. mayaguensis*, tanto no porta-enxerto ‘Magnet’ quanto no ‘Helper M’. A porcentagem de J_{2a} encontrada em ambos os tomateiros não diferiu significativamente. Após 3 DAI, *M. javanica* ainda não havia penetrado no sistema radicular de ‘Magnet’, nem de ‘Helper M’, não sendo encontrado J_{2a} nestes tomateiros (Tabela 1). Este fato sugere que pode haver algum tipo de resistência pré-infectiva (Rhode, 1972), além dos mecanismos de resistência já determinados em tomateiros com o gene *Mi*.

A penetração de juvenis de *Meloidogyne* nos primeiros dias após a inoculação já foi constatada em outros estudos (Moritz et al. (2008a) e Oliveira (2006)). Entretanto, Taylor e Sasser (1978) citam haver alta penetração de juvenis de *Meloidogyne* spp. em períodos inferiores a 24 horas da inoculação. Em tomateiro suscetível ‘Rutgers’, Costa et al. (1998) observaram uma baixa penetração de J₂ de *M. javanica* ao quarto dia após a inoculação, isso devido, provavelmente, por terem utilizado ovos como inóculo.

Aos 10 DAI (Figura 2), foi encontrada a maior taxa de penetração de J_{2a} de *M. mayaguensis* em ‘Helper M’, sendo esta significativamente maior que em ‘Magnet’.

A porcentagem de J_{2a} encontrada em ‘Magnet’ não diferiu significativamente da encontrada na quinta (31 DAI) época de coleta (Tabela 1). Já foi possível observar, aos 10 DAI, o alargamento dos juvenis (J_{2b}) de *M. mayaguensis* sendo encontrado número significativamente maior de J_{2b} de *M. mayaguensis* em relação a *M. javanica* em ambos os porta-enxertos. Costa et al. (1998) observaram em tomateiro suscetível ‘Rutgers’ a presença de J₂ de *M. javanica* exibindo o corpo de forma alargada, tipo “salsicha” (J_{2b}), aos 8 e 12 dias após a inoculação. Oliveira (2006) observou o alargamento dos J₂ de *M. incognita* a partir do 8º dia quando inoculados em cafeeiro.

Durante o período de 3 a 10 DAI houve penetração de *M. javanica*, comprovada pela presença de J_{2b} na segunda avaliação (10 DAI), em ambos os porta-enxertos de tomateiro (Tabela 2). A taxa de penetração de J_{2a} de *M. javanica* foi significativamente menor do que a de *M. mayaguensis* apenas em ‘Helper M’, não diferindo em ‘Magnet’.

Aos 17 DAI (Figura 3) foram encontrados J_{2a} de *M. mayaguensis* e *M. javanica* não tendo diferença significativa entre eles e nem entre os porta-enxertos. A porcentagem de J_{2b} de *M. mayaguensis* foi significativamente maior em ‘Helper M’, enquanto a porcentagem de J₄ dessa espécie foi significativamente maior em ‘Magnet’. Juvenis de terceiro estágio e fêmeas sem ovos de *M. mayaguensis* foram encontrados em ambos os porta-enxertos de tomateiro, não havendo diferença entre eles. Costa et al. (1998) observaram os estádios J₃ e J₄ de *M. javanica* em raízes de tomateiro suscetível ‘Rutgers’ aos 12 DAI, sendo que o maior número destes foi encontrado aos 24 DAI. Dias-Arieira et al. (2002) observaram um número cada vez mais expressivo de J₃ e J₄ de *M. javanica* a partir de 12 DAI nas raízes de soja e Oliveira (2006) observou que aproximadamente 54% dos indivíduos de *M. incognita* de uma população patogênica a cafeeiro se encontravam no estágio J₃ ou J₄, aos 15 DAI.

Não foram encontrados J_{2b} de *M. javanica* em nenhum dos porta-enxertos, bem como J₃, J₄ e fêmeas sem ovos (Tabelas 2-4 e 6) nessa época.

Aos 24 dias após a inoculação (Figura 4), havia no sistema radicular todos os estádios de desenvolvimento de *M. mayaguensis*. A porcentagem de J_{2a} dessa espécie foi significativamente maior em ‘Helper M’ (Tabela 1). As porcentagens de J_{2b}, J₃, J₄, machos, fêmeas sem ovos e fêmeas com ovos não diferiram entre os porta-enxertos de tomateiro (Tabelas 2-7). Costa et al. (1998) detectaram fêmeas de *M. javanica* em tomateiro ‘Rutgers’ aos 20 dias após a inoculação, enquanto Guimarães et al. (2003) observaram que o

amendoim, espécie já considerada como imune a *M. mayaguensis*, apresentou grande quantidade de indivíduos de diferentes estádios no interior das raízes, não ocorrendo, entretanto, fêmeas adultas com ovos.

M. mayaguensis completou o ciclo biológico nos tomateiros estudados 24 dias após a inoculação, a 26°C, quando foi constatada a presença de fêmeas com ovos (Tabela 7).

A porcentagem de J_{2a} e J_{2b} de *M. javanica*, aos 24 DAI, não diferiu significativamente entre os porta-enxertos ‘Magnet’ e ‘Helper M’. Não foram encontrados nesta época os demais estádios de desenvolvimento dessa espécie em nenhum dos porta-enxertos.

Aos 31 dias (Figura 5) foram observados todos os estádios de desenvolvimento de *M. mayaguensis* em ambos os porta-enxertos. Para essa espécie, a porcentagem de J_{2a} encontrada foi maior que a encontrada para *M. javanica*. A maior porcentagem de J_{2a} de *M. mayaguensis* foi observada no porta-enxerto ‘Magnet’, não diferindo significativamente entre a encontrada aos 10 DAI neste porta-enxerto. A ocorrência elevada de J_{2a} vários dias após a inoculação, pode ser devido à eclosão dos juvenis após postura das fêmeas encontradas aos 24 DAI, ou também devido à entrada posterior desses juvenis nos sistemas radiculares. Não houve diferença significativa entre os porta-enxertos quanto às porcentagens de J_{2b}, J₃, J₄ e machos encontradas, as quais mostraram-se baixas.

Também nessa época, para *Meloidogyne mayaguensis* foi encontrada a maior porcentagem de fêmeas sem ovos no porta-enxerto ‘Magnet’. No entanto, não houve diferença na porcentagem de fêmeas com ovos encontradas nos porta-enxertos. Moritz et al. (2008a) constataram maior número de fêmeas de *M. paranaensis* entre os 22 e 32 dias após a inoculação em um cultivar suscetível de soja, sendo que poucas atingiram esse estágio em um cultivar resistente.

Aos 31 DAI, *M. javanica* apresentou baixa porcentagem de J_{2a}, não diferindo significativamente entre os porta-enxertos. Não foram encontrados nesta época os demais estádios de desenvolvimento dessa espécie.

Embora tenham ocorrido diferenças nas porcentagens dos estádios de *M. mayaguensis* encontrados em cada porta-enxerto de tomateiro estudado, nas épocas de coleta, isto não comprova a diferença na reação dos porta-enxertos frente a essa espécie. Fato

esse comprovado com o prévio trabalho de Cantu et al. (2009) que, avaliando a reação dos porta-enxertos ‘Magnet’ e ‘Helper M’ a *M. mayaguensis*, constatou o fator de reprodução desse nematóide em ‘Magnet’ igual a 12,05, enquanto em ‘Helper M’ o fator de reprodução foi de 14,92, sem diferença significativa entre eles.

Os porta-enxertos utilizados nesse estudo são resistentes à meloidoginose, portadores do gene *Mi*, cujo principal mecanismo de resistência é a reação de hipersensibilidade (HR) em tomateiros parasitados por *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*. Isso justifica a presença de apenas indivíduos J_{2a} e J_{2b} nos sistemas radiculares das plantas inoculadas com *M. javanica*. Herman et al. (1991) e Carpenter e Lewis (1991) estudando interações entre *Meloidogyne* spp. e soja, observaram que a reação de resistência da planta não depende necessariamente de sua capacidade de impedir ou dificultar a penetração dos J₂, mas possivelmente esteja em alguma etapa posterior do parasitismo, como no estabelecimento do sítio de alimentação, por exemplo.

Oliveira (2006) observou que a penetração dos J₂ de uma população não-patogênica de *M. incognita* de Minas Gerais foi 89,5 e 92,7% menor do que a apresentada pela população de *M. incognita* patogênica de São Paulo, em cafeeiros ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ e ‘Apoatã IAC 2258’, respectivamente. De acordo com o autor tal incompatibilidade pode ser devido a existência de mecanismos de resistência que reduzem a penetração do nematoide, como a existência de barreiras morfológicas ou a produção de exsudatos radiculares que não atraem ou repelem os J₂ dessa população (Nibalck et al. 1986; Potenza et al., 1996) e também fatores de resistência pós-penetração que ocasionaram uma significativa emigração do J₂ e impediram o estabelecimento do nematoide.

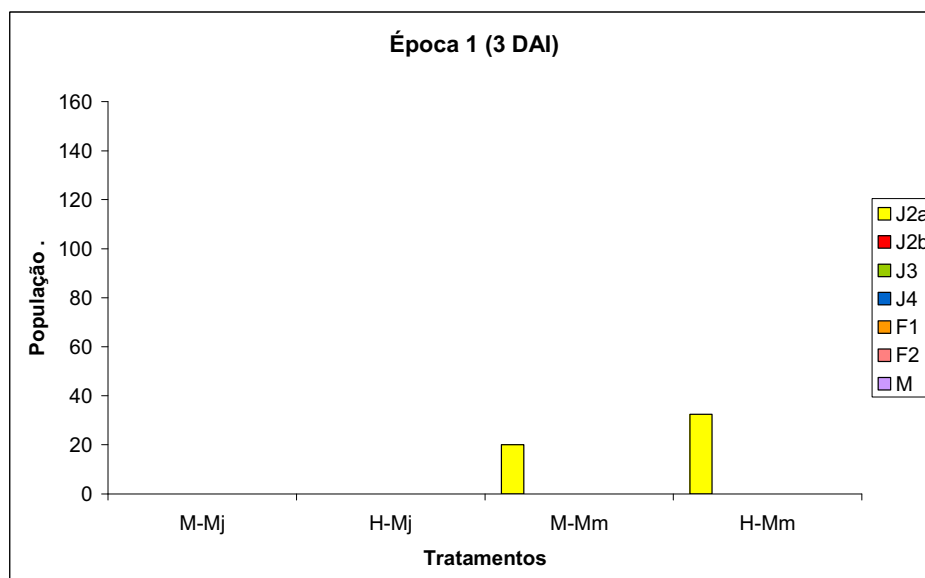


Figura 1. Número de indivíduos dos diferentes estádios de desenvolvimento de *Meloidogyne javanica* (Mj) e *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) no sistema radicular dos porta-enxertos de tomateiro 'Magnet' (M) e 'Helper M' (H), ao 3º dia após a inoculação. Cada barra representa a média de cinco repetições.

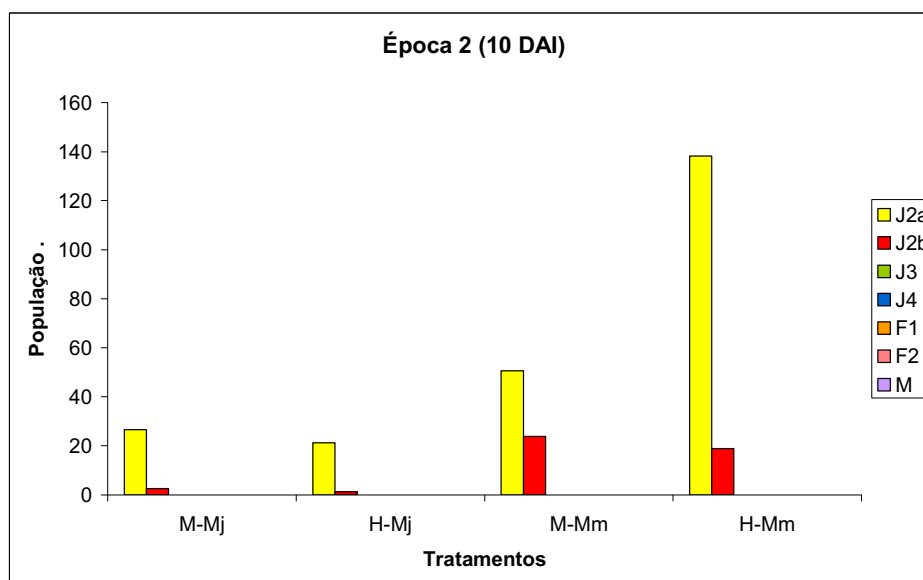


Figura 2. Número de indivíduos dos diferentes estádios de desenvolvimento de *Meloidogyne javanica* (Mj) e *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) no sistema radicular dos porta-enxertos de tomateiro 'Magnet' (M) e 'Helper M' (H), ao 10º dia após a inoculação. Cada barra representa a média de cinco repetições.

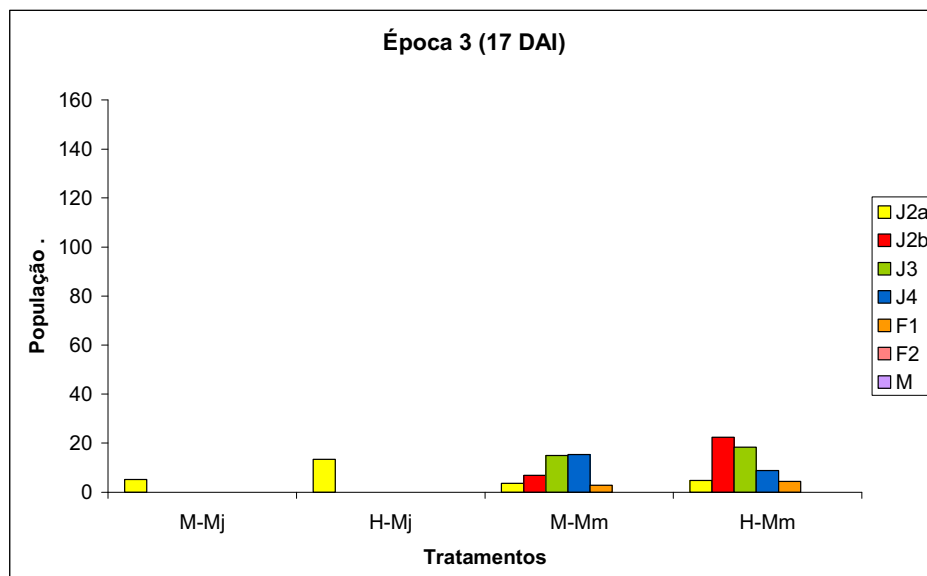


Figura 3. Número de indivíduos dos diferentes estádios de desenvolvimento de *Meloidogyne javanica* (Mj) e *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) no sistema radicular dos porta-enxertos de tomateiro 'Magnet' (M) e 'Helper M' (H), ao 17º dia após a inoculação. Cada barra representa a média de cinco repetições.

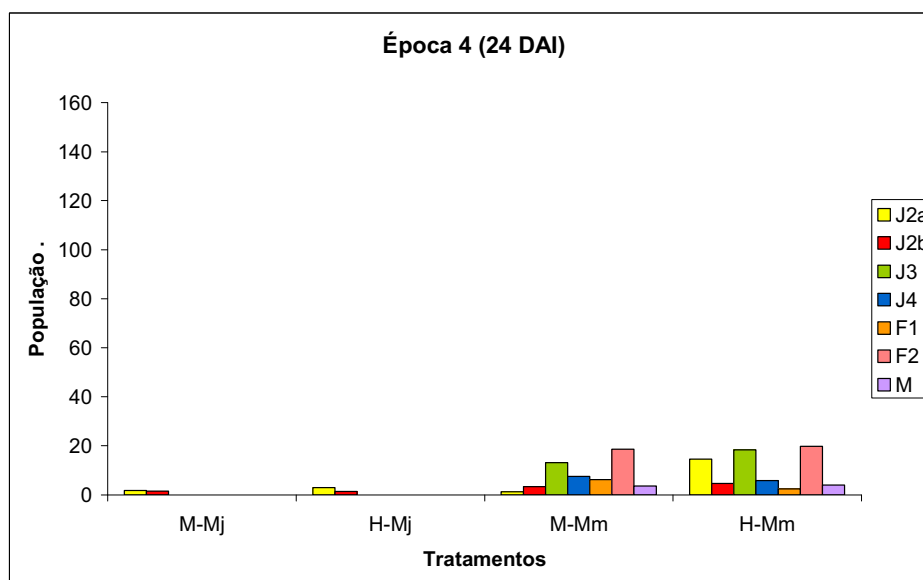


Figura 4. Número de indivíduos dos diferentes estádios de desenvolvimento de *Meloidogyne javanica* (Mj) e *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) no sistema radicular dos porta-enxertos de tomateiro 'Magnet' (M) e 'Helper M' (H), ao 24º dia após a inoculação. Cada barra representa a média de cinco repetições.

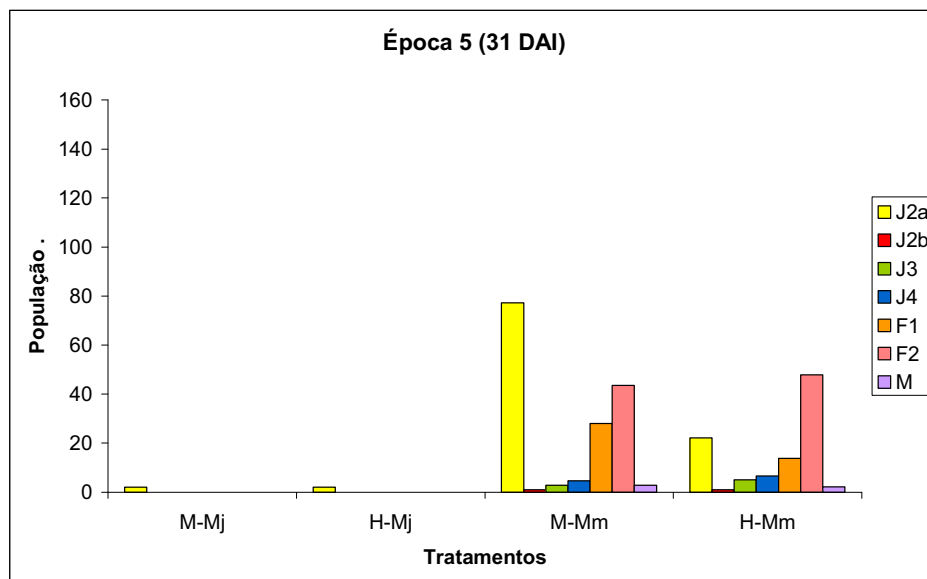


Figura 5. Número de indivíduos dos diferentes estádios de desenvolvimento de *Meloidogyne javanica* (Mj) e *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) no sistema radicular dos porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ (M) e ‘Helper M’ (H), ao 31º dia após a inoculação. Cada barra representa a média de cinco repetições.

Tabela 1. Médias referentes à porcentagem de juvenis de segundo estágio (J_{2a}) de *Meloidogyne javanica* (Mj) e *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) no sistema radicular de porta-enxertos de tomateiro ‘Helper M’ e ‘Magnet’, em Botucatu-SP, 2009.

Dias	‘Helper M’		‘Magnet’	
	Mj	Mm	Mj	Mm
3	0,00 a A α	6,48 a B β	0,00 a A α	4,00 a B βγ
10	4,24 a A β	27,64 b B γ	5,32 a A β	10,12 a A γσ
17	2,68 a A αβ	0,96 a A α	1,04 a A αβ	0,72 a A αβ
24	0,60 a A αβ	2,92 b A αβ	0,36 a A α	0,24 a A α
31	0,42 a A α	4,44 a B αβ	0,40 a A α	15,44 b B γσ
CV(%)	37,00			

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os tomateiros entre o mesmo nematoide e na mesma época. Letras maiúsculas comparam os nematoides em um mesmo tomateiro e mesma época. Letras gregas comparam as épocas entre o mesmo nematoide e tomateiro.

Tabela 2. Médias referentes à porcentagem de juvenis de segundo estágio (J_{2b}) de *Meloidogyne javanica* (Mj) e *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) no sistema radicular de porta-enxertos de tomateiro ‘Helper M’ e ‘Magnet’, em Botucatu-SP, 2009.

Dias	‘Helper M’		Magnet’	
	Mj	Mm	Mj	Mm
3	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α
10	0,24 a A α	3,76 a B β	0,52 a A α	4,76 a B γ
17	0,00 a A α	4,48 b B β	0,00 a A α	1,36 a B β
24	0,28 a A α	0,92 a A α	0,32 a A α	0,68 a A αβ
31	0,00 a A α	0,20 a A α	0,00 a A α	0,20 a A αβ
CV(%)	32,64			

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os tomateiros entre o mesmo nematoide e na mesma época. Letras maiúsculas comparam os nematoides em um mesmo tomateiro e mesma época. Letras gregas comparam as épocas entre o mesmo nematoide e tomateiro.

Tabela 3. Médias referentes à porcentagem de juvenis de terceiro estágio (J₃) de *Meloidogyne javanica* (Mj) e *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) no sistema radicular de porta-enxertos de tomateiro ‘Helper M’ e ‘Magnet’, em Botucatu-SP, 2009.

Dias	‘Helper M’		‘Magnet’	
	Mj	Mm	Mj	Mm
3	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α
10	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α	0,08 a A α
17	0,00 a A α	3,68 a B β	0,00 a A α	2,98 a B β
24	0,00 a A α	3,68 a B β	0,00 a A α	2,64 a B β
31	0,00 a A α	1,00 a B α	0,00 a A α	0,56 a A α
CV(%)	32,14			

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os tomateiros entre o mesmo nematoide e na mesma época. Letras maiúsculas comparam os nematoides em um mesmo tomateiro e mesma época. Letras gregas comparam as épocas entre o mesmo nematoide e tomateiro.

Tabela 4. Médias referentes à porcentagem de juvenis de quarto estágio (J₄) de *Meloidogyne javanica* (Mj) e *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) no sistema radicular de porta-enxertos de tomateiro ‘Helper M’ e ‘Magnet’, em Botucatu-SP, 2009.

Dias	‘Helper M’		‘Magnet’	
	Mj	Mm	Mj	Mm
3	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α
10	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α
17	0,00 a A α	1,76 a B β	0,00 a A α	3,08 b B γ
24	0,00 a A α	1,16 a B β	0,00 a A α	1,52 a B β
31	0,00 a A α	1,32 a B β	0,00 a A α	0,92 a B β
CV(%)	25,44			

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os tomateiros entre o mesmo nematoide e na mesma época. Letras maiúsculas comparam os nematoides em um mesmo tomateiro e mesma época. Letras gregas comparam as épocas entre o mesmo nematoide e tomateiro.

Tabela 5. Médias referentes à porcentagem de machos (M) de *Meloidogyne javanica* (Mj) e *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) no sistema radicular de porta-enxertos de tomateiro ‘Helper M’ e ‘Magnet’, em Botucatu-SP, 2009.

Dias	‘Helper M’		‘Magnet’	
	Mj	Mm	Mj	Mm
3	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α
10	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α
17	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α
24	0,00 a A α	0,80 a B β	0,00 a A α	0,72 a B β
31	0,00 a A α	0,44 a B β	0,00 a A α	0,56 a B β
CV(%)	15,05			

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os tomateiros entre o mesmo nematoide e na mesma época. Letras maiúsculas comparam os nematoides em um mesmo tomateiro e mesma época. Letras gregas comparam as épocas entre o mesmo nematoide e tomateiro.

Tabela 6. Médias referentes à porcentagem de fêmeas sem ovos (F₁) de *Meloidogyne javanica* (Mj) e *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) no sistema radicular de porta-enxertos de tomateiro ‘Helper M’ e ‘Magnet’, em Botucatu-SP, 2009.

Dias	‘Helper M’		‘Magnet’	
	Mj	Mm	Mj	Mm
3	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α
10	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α
17	0,00 a A α	0,88 a B α	0,00 a A α	0,56 a A $\alpha\beta$
24	0,00 a A α	0,48 a A α	0,00 a A α	1,24 a B β
31	0,00 a A α	2,76 a B β	0,00 a A α	5,60 b B γ
CV(%)	33,25			

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os tomateiros entre o mesmo nematoide e na mesma época. Letras maiúsculas comparam os nematoides em um mesmo tomateiro e mesma época. Letras gregas comparam as épocas entre o mesmo nematoide e tomateiro.

Tabela 7. Médias referentes à porcentagem de fêmeas com ovos (F₂) de *Meloidogyne javanica* (Mj) e *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) no sistema radicular de porta-enxertos de tomateiro ‘Helper M’ e ‘Magnet’, em Botucatu-SP, 2009.

Dias	‘Helper M’		‘Magnet’	
	Mj	Mm	Mj	Mm
3	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α
10	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α
17	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α	0,00 a A α
24	0,00 a A α	3,96 a B β	0,00 a A α	3,72 a B β
31	0,00 a A α	9,56 a B γ	0,00 a A α	8,72 a B γ
CV(%)	48,81			

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.
 Letras minúsculas comparam os tomateiros entre o mesmo nematoide e na mesma época.
 Letras maiúsculas comparam os nematoides em um mesmo tomateiro e mesma época.
 Letras gregas comparam as épocas entre o mesmo nematoide e tomateiro.

4.2 Histopatologia de *M. mayaguensis* em tomateiro

Aos 3 e 10 dias após a inoculação (DAI) com os nematoides (*M. mayaguensis* e *M. javanica*), respectivamente nas épocas 1 e 2 de coleta, as raízes dos dois porta-enxertos de tomateiro ('Magnet' e 'Helper M') não apresentaram a formação de galhas típicas, as quais ocorreram em ambos os porta-enxertos aos 17 DAI (época 3), e somente quando os porta-enxertos estavam inoculados com a espécie *M. mayaguensis*. Corrêa (2005) observou a formação de galhas típicas em raízes de tomateiro somente 15 dias após a inoculação com *M. incognita* quando utilizados 5.000 J₂ como inóculo.

Foram observadas alterações anatômicas nas raízes inoculadas com *M. mayaguensis* nas três épocas: 10, 17 e 24 DAI (épocas 2, 3 e 4). Os sítios de alimentação de *M. mayaguensis* foram observados a partir dos 17 dias após a inoculação, ou seja, a partir da terceira época de coleta em ambos os porta-enxertos (Figuras 14-17; 20-23). A avaliação realizada aos 31 DAI (5ª época de coleta) foi eliminada, uma vez que aos 24 DAI (época 4) *M. mayaguensis* já havia completado seu ciclo.

As raízes dos porta-enxertos 'Magnet' e 'Helper M' inoculadas com *M. javanica* não apresentaram alterações anatômicas em qualquer das três épocas (2, 3 e 4) de coleta, ou seja, aos 10, 17 e 24 DAI, pois devido à presença de mecanismos de resistência dos porta-enxertos, o desenvolvimento dessa espécie foi comprometido, não sendo possível o estabelecimento do seu sítio de alimentação e, conseqüentemente, não completando seu ciclo de vida (Figuras 6-11). De acordo com Dropkin (1969), Paulson e Webster (1972) e Ho et al. (1992), em plantas resistentes, os nematoides são atraídos, penetram as raízes e migram em direção ao cilindro vascular não ocorrendo o desenvolvimento do sítio de alimentação. Desenvolvendo, entretanto, ao redor da região anterior dos juvenis de segundo estágio (J₂) que penetraram uma região de células necróticas, também chamada de reação de hipersensibilidade (RH). Não foram observados sinais de RH uma vez que não foram realizados procedimentos para tal observação, porém sabe-se que em tomateiros ela ocorra.

Da mesma forma, Carneiro et al. (2005) estudando o sistema radicular de dois genótipos de algodoeiro, resistente (IAC 96/414) e suscetível (IAC 98/708), inoculados com *M. incognita* raça 3 observaram aos 6 dias após a inoculação reduzido número de J₂ no genótipo resistente, devido à dificuldade dos juvenis penetrarem e/ou se

desenvolverem para estádios mais avançados. Entretanto, alguns poucos indivíduos conseguiram atingir a maturidade e depositaram ovos na matriz gelatinosa aos 48 dias após a inoculação.

Aos 17 DAI (época 3), o cilindro vascular das raízes dos dois porta-enxertos inoculados com *M. mayaguensis* apresentaram poucas células gigantes, com citoplasma denso, bem como desorganização de células do córtex e do cilindro vascular, devido à presença dos sítios de alimentação em desenvolvimento pelo aparecimento dessas primeiras células gigantes (Figuras 14-15; 20-21). Os sítios de alimentação comprimiram inclusive as células do xilema, sendo denominados por Krusberg e Nielsen (1958) e por Siddiqui e Taylor (1970) como xilema anormal.

Ainda na terceira época (17 DAI), as células gigantes apresentaram-se multinucleadas, com 4 a 11 núcleos (vistos em uma dimensão) originários de sucessivas cariocineses (Figuras 16-17; 22-23), como também relatou Dropkin (1969), estudando plantas de tomate inoculadas com *M. incognita*. Corrêa (2005) observou aos 15 DAI em plantas de tomateiro inoculadas com *M. incognita* células gigantes multinucleadas, apresentando 5 a 12 núcleos e parede mais espessa. Enquanto, Oliveira (2006) encontrou em raízes do cafeeiro 'Catuaí' inoculadas com uma população patogênica de *M. incognita* os primeiros indícios da indução de células de alimentação aos 6 DAI. Sendo que aos 8 DAI, as células gigantes em número de quatro a oito, já apresentavam características típicas, ou seja, células multinucleadas com parede espessa e citoplasma denso.

A presença das células gigantes no cilindro vascular sugere um possível comprometimento de suas funções, através da alteração de sua quantidade e tamanho (Figuras 16 e 22), acarretando em redução do transporte de água e nutrientes pelo xilema (Dorhout et al., 1991).

Aos 24 DAI (época 4), o córtex radicular apresentou-se com células indiferenciadas hipertrofiadas e hiperplásicas, e sem células gigantes, enquanto o cilindro vascular encontrou-se desorganizado, deslocado do centro da estrutura, com células gigantes presentes (Figuras 16-17; 22-23), como também descreveu Huang (1966), para plantas de gengibre parasitadas por *M. incognita*.

A desorganização dos tecidos (Figuras 16-17 e 22-23), causada pela presença do sítio de alimentação no cilindro vascular, provocou a compressão e destruição do

xilema, como também relatou Santos (1997), trabalhando com *Hevea brasiliensis* parasitada por *M. exigua*.

As células gigantes do sítio de alimentação, aos 24 dias após a inoculação (época 4) apresentaram as paredes celulares espessas (Figuras 17 e 23). Foi observada também nessa época, a presença de fêmeas em contato com o sítio de alimentação, caracterizando este sítio como eficiente para a nutrição do nematoide, uma vez que a ocorrência de cinco a nove células gigantes por sítio de alimentação é necessária para o desenvolvimento perfeito do nematoide, como afirmaram Silva et al. (1990) para raízes de tomateiro parasitadas por *M. javanica*.

Gomes (2006), estudando raízes de dois acessos de *Pfaffia glomerata*, um suscetível (Farmacotécnica) e outro resistente (UFV), inoculados com *M. incognita* raça 1, verificaram a presença de fêmeas apenas no acesso suscetível aos 28 dias após a inoculação se alimentando em células gigantes bem formadas, com pequenos núcleos e poucos vacúolos.

Portanto, na relação parasito-hospedeiro (*Meloidogyne mayaguensis* – raiz de tomateiro) verificou-se no cilindro vascular a formação de mais de um sítio de alimentação, constituídos pela presença de várias células nutridoras, caracterizadas pela ocorrência de parede celular espessa, citoplasma denso e granuloso, células multinucleadas e com vários vacúolos de pequeno tamanho. Os tecidos vasculares apresentaram-se comprimidos e desorganizados, observando-se também hipertrofia de células do parênquima cortical (Figuras 16-17 e 22-23).

A Tabela 8 mostra os valores médios de número e área dos sítios de alimentação e das células gigantes, bem como a área da seção total da raiz, do conjunto epiderme e córtex, e do cilindro vascular, avaliados em três épocas de coleta (10, 17 e 24 DAI) das raízes dos porta-enxertos ‘Magnet’ e ‘Helper M’ de tomateiro, após a inoculação com *M. mayaguensis* e *M. javanica*, e empregados para a realização da análise estatística multivariada. Para *M. javanica*, os valores referentes aos sítios de alimentação e células gigantes foram nulos, nas três épocas de coleta (10, 17 e 24 DAI), pois os porta-enxertos utilizados são resistentes a esse nematoide, não permitindo, conseqüentemente, o estabelecimento do sítio de alimentação (Figuras 6-11).

O dendrograma resultante da Análise de Agrupamento (Figura 24) permitiu agrupar os tratamentos estudados, de forma que os pertencentes a um mesmo grupo

apresentaram maior similaridade que os tratamentos de grupos diferentes. Os 12 tratamentos constituíram quatro grupos principais, ao nível de 0,16 da escala de distância de similaridade, os quais apresentaram a seguinte disposição: Grupo 1 – formado por ambos os porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ e ‘Helper M’ inoculados com *M. javanica* nas três épocas de coleta (10, 17 e 24 DAI) e também os dois porta-enxertos (‘Magnet’ e ‘Helper M’) inoculados com *M. mayaguensis* na segunda época de coleta (10 DAI); Grupo 2 – constituído pelos porta-enxertos ‘Magnet’ e ‘Helper M’ inoculados com *M. mayaguensis* na terceira época (17 DAI); Grupo 3 – formado apenas pelo porta-enxerto ‘Magnet’ inoculado com *M. mayaguensis* na quarta época (24 DAI); Grupo 4 – formado apenas pelo porta-enxerto de tomateiro ‘Helper M’ inoculado com *M. mayaguensis* na quarta época (24 DAI).

A dispersão gráfica (Figura 25) dos tratamentos avaliados revelou que houve também a formação de quatro grupos distintos, os quais mostraram a mesma disposição indicada pelo dendrograma (Figura 24), ou seja, o grupo 1 foi formado pelos porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ e ‘Helper M’ inoculados com *M. javanica* nas três épocas de coleta, e também por esses porta-enxertos inoculados com *M. mayaguensis* na época 2 de coleta, o grupo 2 constituiu-se pelos dois porta-enxertos de tomateiro inoculados com *M. mayaguensis* na época 3, o grupo 3 foi formado apenas pelo porta-enxerto de tomateiro ‘Magnet’ inoculado com *M. mayaguensis* na época 4, e o grupo 4 foi constituído pelo porta-enxerto de tomateiro ‘Helper M’ inoculado com *M. mayaguensis* na época 4.

Na Tabela 9 encontram-se os coeficientes de correlação entre as sete características anatômicas quantitativas da raiz, referentes aos 12 tratamentos estudados, e os dois primeiros componentes principais (Y_1 e Y_2). Verifica-se que, para o primeiro componente (Y_1), todas as sete características anatômicas analisadas, ou seja, a área da seção total da raiz, do conjunto epiderme e córtex, do cilindro vascular, do sitio de alimentação e da célula gigante, bem como o número de sítios de alimentação e do número de células gigantes, apresentaram grande contribuição para a discriminação entre os tratamentos, uma vez que essas características apresentaram maior valor absoluto de Y_1 , revelando, portanto, alto poder discriminatório. O primeiro componente principal (Y_1) foi responsável por 91,67% da informação contida no conjunto das sete características analisadas, evidenciando que esse componente pode ser um indicador eficiente de dissimilaridade, enquanto o segundo componente (Y_2) apresentou apenas 7,02% da informação retida. Estes componentes, no

conjunto, foram responsáveis por 98,69% da informação acumulada pelas características anatômicas quantitativas avaliadas.

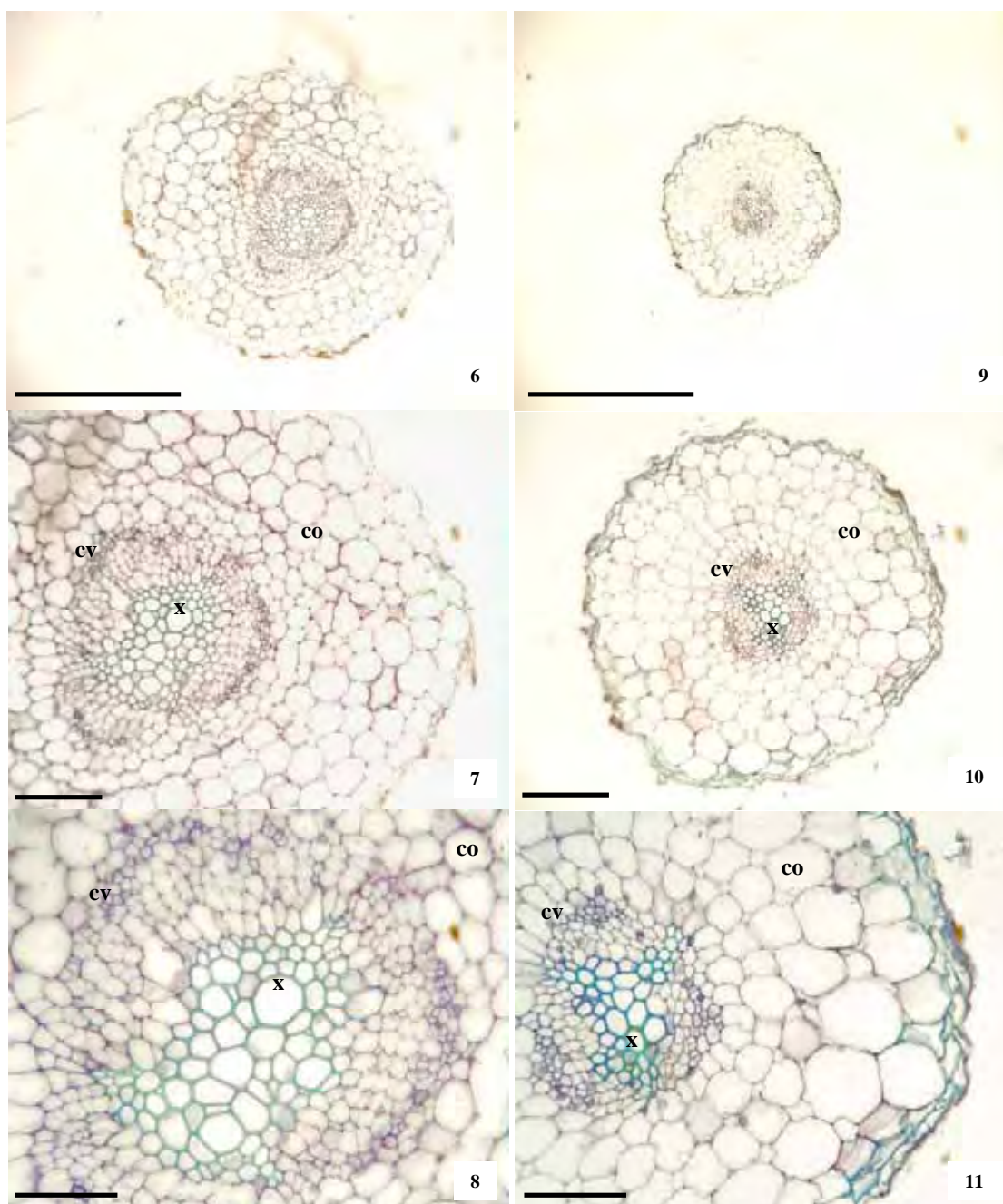
A análise das Tabelas 8 e 9, juntamente com a Figura 24, permite constatar que os tratamentos indicados por M-Mj-E2, H-Mj-E2, M-Mj-E3, H-Mj-E3, M-Mj-E4, H-Mj-E4, M-Mm-E2 e H-Mm-E2 são similares (onde M: ‘Magnet’, H: ‘Helper M’, Mj: *M. javanica*, Mm: *M. mayaguensis*, E2: época 2 de coleta, E3: época 3 de coleta, E4: época 4 de coleta).

Aos 17 DAI (época 3), iniciou-se o aparecimento de células nutridoras (gigantes) em ambos os porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ e ‘Helper M’ inoculados com *M. mayaguensis* (Figuras 14-15 e 20-21), devido ao estímulo provocado por esse nematoide na raiz, ocorrendo menor número e menor área de células gigantes e de sítios de alimentação, em comparação com a época 4 (24 DAI). Os tratamentos M-Mm-E3 e H-Mm-E3, pertencentes ao grupo 2, não apresentaram dissimilaridade, ou seja, mostraram valores similares das características anatômicas analisadas (Figuras 15 e 21), constituindo-se, portanto, um agrupamento formado pelos dois porta-enxertos de tomateiro inoculados com *M. mayaguensis* e avaliados aos 17 dias após a inoculação (época 3).

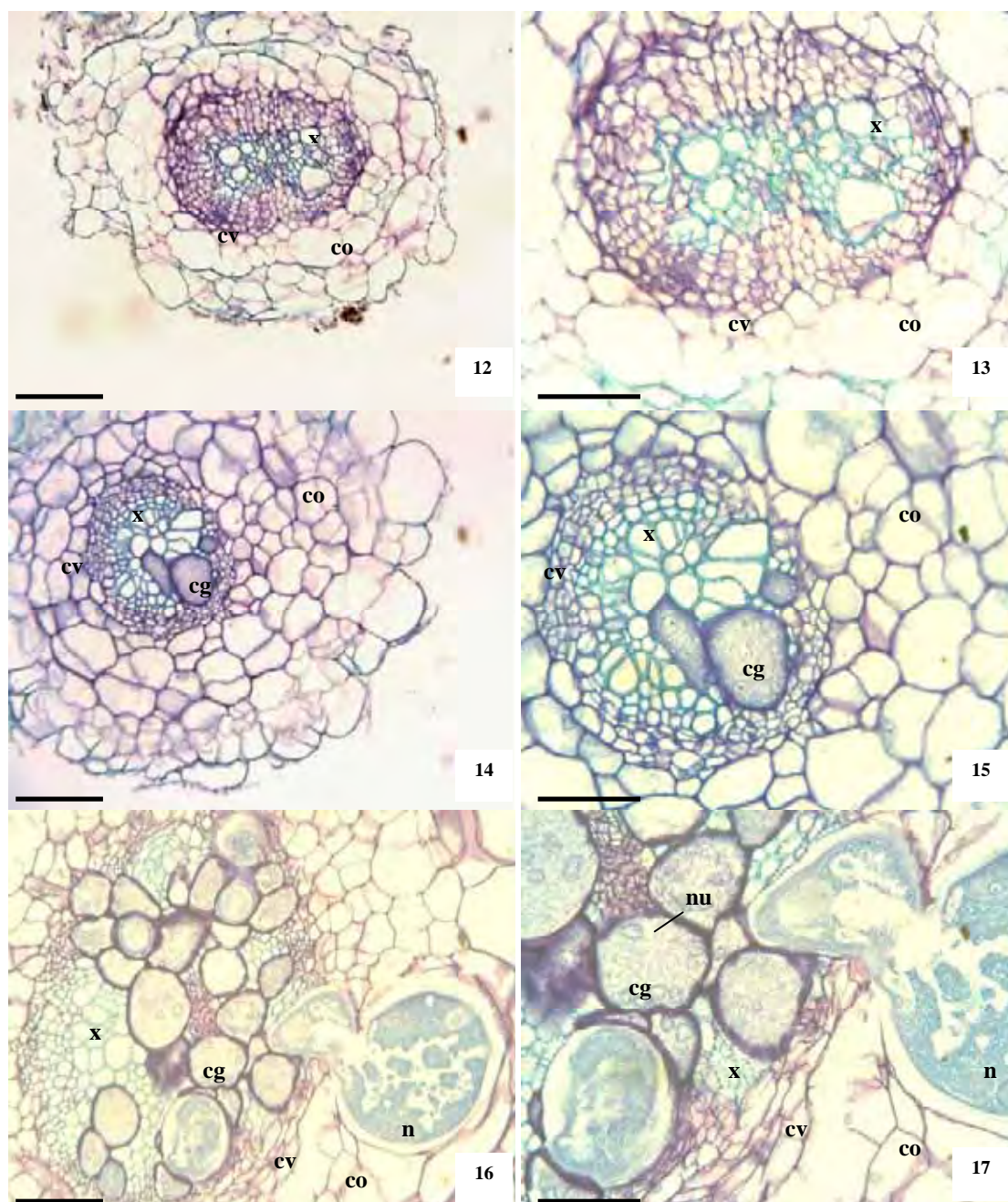
Aos 24 DAI (época 4), o número e a área dos sítios de alimentação e das células gigantes aumentaram em ambos porta-enxertos inoculados com *M. mayaguensis*, ocorrendo dissimilaridade entre os porta-enxertos, sendo que o ‘Helper M’ permitiu maior desenvolvimento dos sítios de alimentação e das células gigantes (Figura 16-17 e 22-23).

Desta forma, o conhecimento das alterações anatômicas radiculares, devido à interação porta-enxertos de tomateiro e o nematoide *M. mayaguensis*, pode contribuir para o melhor entendimento desse patossistema, uma vez que os porta-enxertos ‘Magnet’ e ‘Helper M’ eram considerados como resistentes a meloidoginose pelas respectivas empresas produtoras das sementes, sendo essa resistência quebrada por *M. mayaguensis*.

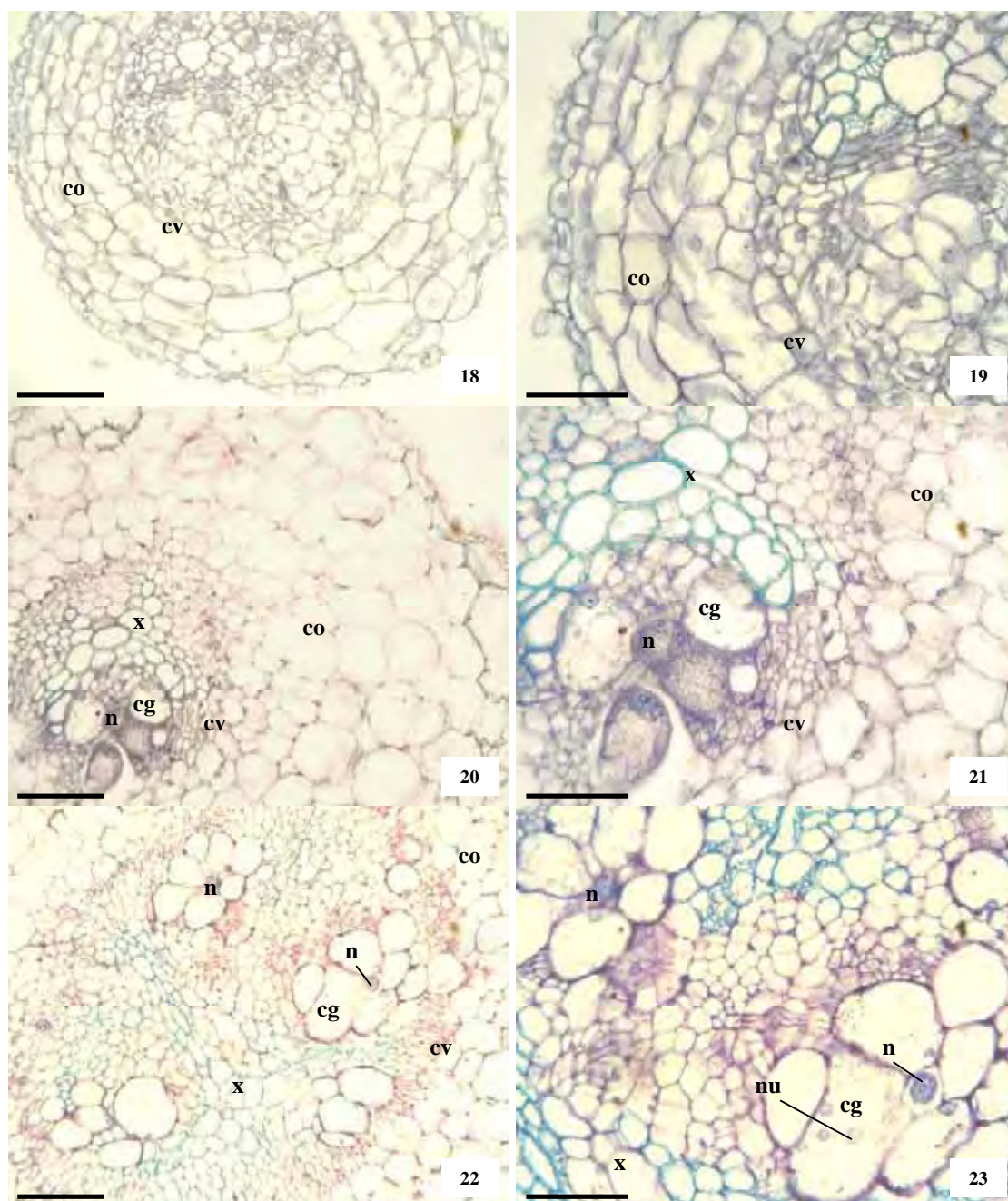
Os métodos estatísticos multivariados empregados mostraram-se satisfatórios, uma vez que houve boa concordância entre os resultados obtidos na Análise de Agrupamento (Figura 24) e na Análise de Componentes Principais (Figura 25), ocorrendo alto valor (98,69%) da porcentagem de informação acumulada pelos dois primeiros componentes principais (Tabela 9).



Figuras 6-11. Secções transversais de raízes dos porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ e ‘Helper M’ inoculadas com *Meloidogyne javanica*. **6-8.** ‘Magnet’ aos 24 dias após a inoculação (época 4). **9-11.** ‘Helper M’ aos 24 dias após a inoculação (época 4). Cilindro vascular (cv), córtex (co), xilema (x). Barra = 100 μm (6, 9); 25 μm (7, 10); 15 μm (8, 11).



Figuras 12-17. Secções transversais de raízes do porta-enxerto de tomateiro ‘Magnet’ inoculadas com *Meloidogyne mayaguensis*. **12-13.** Aos 10 dias após a inoculação (época 2). **14-15.** Aos 17 dias após a inoculação (época 3). **16-17.** Aos 24 dias após a inoculação (época 4). Células gigantes (cg), cilindro vascular (cv), córtex (co), nematóide (n), xilema (x), núcleo (nu). Barra = 25 µm (12, 14, 16); 15 µm (13, 15, 17).



Figuras 18-23. Secções transversais de raízes do porta-enxerto de tomateiro ‘Helper M’ inoculadas com *Meloidogyne mayaguensis*. **18-19.** Aos 10 dias após a inoculação (época 2). **20-21.** Aos 17 dias após a inoculação (época 3). **22-23.** Aos 24 dias após a inoculação (época 4). Células gigantes (cg), cilindro vascular (cv), córtex (co), nematóide (n), xilema (x), núcleo (nu). Barra = 25 μ m (18, 20, 22); 15 μ m (19, 21, 23).

Tabela 8. Valores médios da área (mm²) da seção total da raiz (ASR), do conjunto epiderme e córtex (AEpC), do cilindro vascular (ACV), da área (x10⁻³ mm²) do sítio de alimentação (ASA), da célula gigante (ACG), do número de sítios de alimentação (NSA) e do número de células gigantes (NCG), avaliados aos 10, 17 e 24 dias após a inoculação (DAI) com *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) e *Meloidogyne javanica* (Mj), em porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ (M) e ‘Helper M’ (H).

Tratamentos	Épocas	ASR	AEpC	ACV	ASA	ACG	NSA	NCG
M-Mm	10 DAI	0,38	0,31	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00
M-Mm	17 DAI	0,60	0,48	0,12	8,11	1,50	1,67	5,33
M-Mm	24 DAI	1,59	1,36	0,24	49,16	2,56	3,67	19,33
M-Mj	10 DAI	0,22	0,20	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
M-Mj	17 DAI	0,20	0,16	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
M-Mj	24 DAI	0,34	0,29	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00
H-Mm	10 DAI	0,29	0,23	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00
H-Mm	17 DAI	0,98	0,87	0,11	7,01	1,07	1,33	6,67
H-Mm	24 DAI	1,92	1,52	0,40	103,00	1,71	7,67	51,67
H-Mj	10 DAI	0,16	0,14	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
H-Mj	17 DAI	0,21	0,17	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
H-Mj	24 DAI	0,24	0,22	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabela 9. Correlações entre sete características anatômicas quantitativas das raízes de dois porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ e ‘Helper M’ inoculadas com *Meloidogyne mayaguensis* e *Meloidogyne javanica* avaliadas em três épocas de coleta, e os dois primeiros componentes principais (Y_1 e Y_2). Porcentagem da informação retida e acumulada em Y_1 e Y_2 .

Características quantitativas	Y_1	Y_2
Área da seção total da raiz	0,9882	0,0834
Área da epiderme + córtex	0,9776	0,1316
Área do cilindro vascular	0,9875	- 0,1126
Área do sítio de alimentação	0,9611	- 0,2593
Área da célula gigante	0,8763	0,4680
Número de sítios de alimentação	0,9811	- 0,1701
Número de células gigantes	0,9530	- 0,2981
% Informação retida	91,67	7,02
% Informação acumulada	91,67	98,69

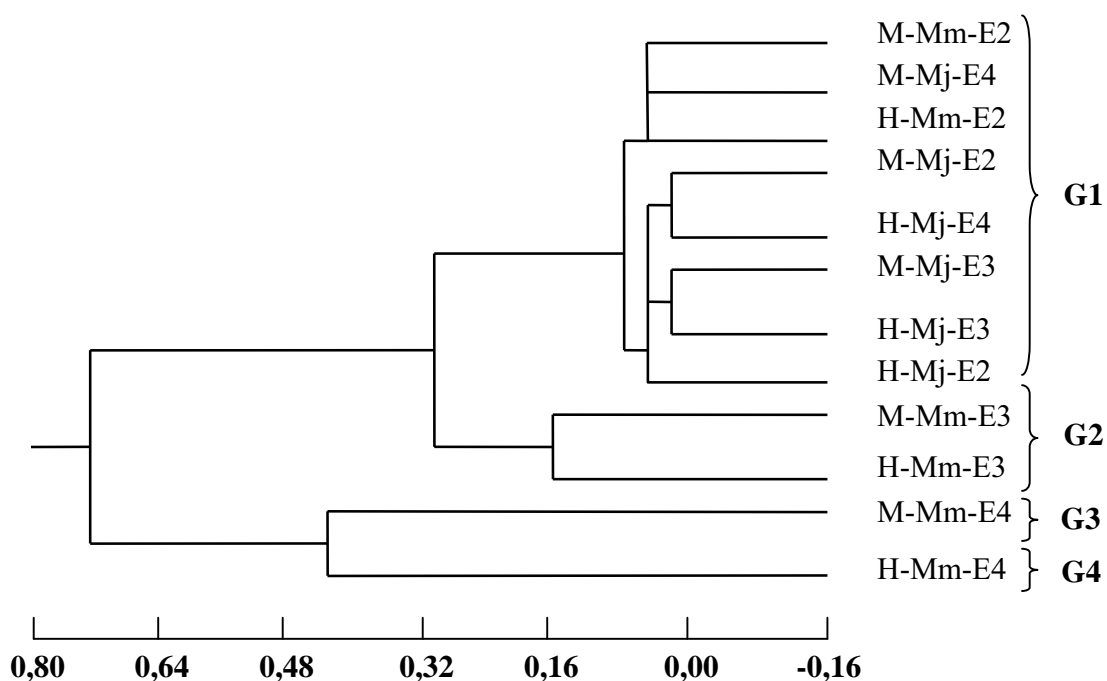


Figura 24. Dendrograma resultante da Análise de Agrupamento das sete características anatômicas quantitativas das raízes de porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ e ‘Helper M’ inoculadas com *Meloidogyne mayaguensis* e *Meloidogyne javanica*, utilizando-se a Distância Euclidiana Média entre os 12 tratamentos. **M:** Porta-enxerto de tomateiro ‘Magnet’. **H:** Porta-enxerto de tomateiro ‘Helper M’. **Mm:** *Meloidogyne mayaguensis*. **Mj:** *Meloidogyne javanica*. **E2-E3-E4:** Épocas referentes a 10, 17 e 24 dias após a inoculação. **G1-G2-G3-G4:** Grupos.

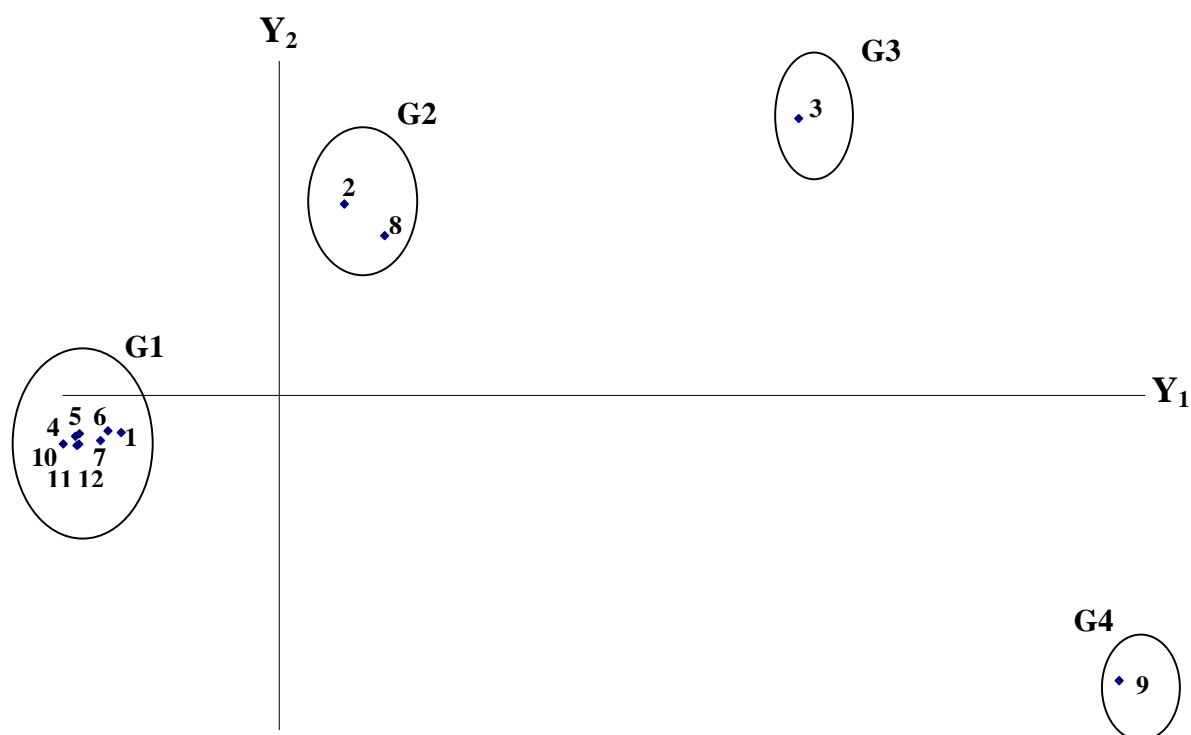


Figura 25. Dispersão gráfica dos 12 tratamentos analisados, utilizando-se os dois primeiros componentes principais (Y_1 e Y_2), para o conjunto das sete características anatômicas quantitativas das raízes de porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ (M) e ‘Helper M’ (H), inoculadas com *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) e *Meloidogyne javanica* (Mj), avaliadas em três diferentes épocas de coleta (E2-E3-E4, respectivamente, aos 10, 17 e 24 dias após a inoculação). **1-12:** Tratamentos (tomateiro-nematóide-época). **1:** M-Mm-E2. **2:** M-Mm-E3. **3:** M-Mm-E4. **4:** M-Mj-E2. **5:** M-Mj-E3. **6:** M-Mj-E4. **7:** H-Mm-E2. **8:** H-Mm-E3. **9:** H-Mm-E4. **10:** H-Mj-E2. **11:** H-Mj-E3. **12:** H-Mj-E4. **G1-G2-G3-G4:** Grupos.

5 CONCLUSÕES

Meloidogyne mayaguensis consegue completar seu ciclo biológico aos 24 dias, em raízes de tomateiros ‘Magnet’ e ‘Helper M’.

Os sítios de alimentação de *Meloidogyne mayaguensis* em tomateiros ‘Magnet’ e ‘Helper M’ são compostos por várias células gigantes multinucleadas, com parede celular espessa e citoplasma granuloso e denso.

Meloidogyne javanica não é capaz de completar seu ciclo biológico em raízes de tomateiros ‘Magnet’ e Helper M’.

Meloidogyne javanica consegue induzir a formação de sítios de parasitismo nas raízes dos tomateiros estudados.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ABREU, C.L.M. **Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais**. 2006. 71 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura)–Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

ALMEIDA, E.J. et al. Novos registros sobre *Meloidogyne mayaguensis* no Brasil e estudo morfológico comparativo com *M. incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 3, p. 236-241, 2008.

ALVARENGA, M.A.R. **Tomate: produção em campo, em casa de vegetação e em hidroponia**. Lavras: Perffil, 2004. 400 p.

ALVES, G.C.S. et al. Reaction of *Coffea* spp. to *Meloidogyne mayaguensis*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF TROPICAL NEMATOLOGY, 2., 2009, Maceió. **Anais...** Maceió: ONTA and SBN, 2009. 1 CD-ROM.

ANDRADE, N.C. et al. Análise histopatológica de genótipos de feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* L. WALP.) resistente e suscetível ao nematoide de galhas (*Meloidogyne incognita*). In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 54., 2003, Belém, PA. **Anais...** Belém, PA: MPEG, UFRA; EMBRAPA, 2003. 1 CD-ROM.

ANTHONY, F. et al. Hypersensitive-like reaction conferred by the *Mex-1* resistance gene against *Meloidogyne exigua* in coffee. **Plant Pathology**, v. 54, p. 476-482, 2005.

ARAGÃO, C.A. **Tricomas foliares associados à resistência ao acaro rajado *Tetranychus urticae* Koch. em linhagens de tomateiro com alto teor de 2-tridecanona nos folíolos.** 1998. 71 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

ASMUS, G. L. et al. Anatomical changes in corm (*Zea mays* L.) roots caused by *Meloidogyne javanica*. **Nematropica**, v. 30, p. 33-39, 2000.

ASMUS, G. L. et al. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado de Mato Grosso do Sul. **Nematologia Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 112, 2007.

BARRONS, K. C. Studies of the nature of root-knot resistance. **Journal Agricultural Research**, v. 58, p. 263-271, 1939.

BIRD, A. F. **The structure of nematodes.** New York: Academic, 1971. 318 p.

BIRD, A. F.; LOVEYS, B. R. The incorporation of photosynthates by *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 7, n. 2, p. 111-113, 1975.

BONETTI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 6, n. 3, p. 553, 1981.

BRITO, J. et al. ***Meloidogyne mayaguensis* reproduction on resistant tomato and pepper.** 2004. Disponível em:
<<http://www.mbao.org/2004/Proceedings04/077%20BritoJ%20MBr%20RESISTANCE%20Mm%20Tom%20pep04.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2008.

BROWN, C. R. et al. The effect of the *Mi* gene in tomato on reproductive factors of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. hapla*. **Journal of Nematology**, v. 29, n. 3, p. 416-419, 1997.

BRUESKE, C. H. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato roots infected and resistant to the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Physiology Plant Pathology**, v. 16, p. 409-414, 1980.

CAMPOS, H. D. et al. Efeito do tempo, substrato e temperatura na penetração de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines* em soja. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 2, p. 156-160, 2006.

CANÇADO-JÚNIOR, F. L. et al. Aspectos econômicos da produção e comercialização do tomate para mesa. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 24, n. 219, p. 7-18, 2003.

CANTU, R. R. et al. Reação de porta-enxertos de tomateiros a *Meloidogyne mayaguensis*. **Summa Phytopathologica**, v. 35, p. 124-126, 2009.

CARELLI, B.P. et al. **Avaliação de resistência a três espécies de *Meloidogyne* (*M. javanica*, *M. arenaria* e *M. incognita*) e presença do gene *Mi* em acessos crioulos e cultivares comerciais de *L. esculentum* Mill. do Sul do Brasil.** 2004. Disponível em: <http://www.ucs.br/ucs/tplSimposio/pesquisa/simposio/trabalhos_pdf/vida/resumo5.pdf>. Acesso em: 26 ago. 2009.

CARNEIRO, R. G.; ALTÉIA, A. A. K. Constatação de *Meloidogyne incognita* em seringueira (*Hevea brasiliensis*) no Paraná. **Nematologia Brasileira**, v. 14, p. 6-7, 1990.

CARNEIRO, R. G. et al. Identificação de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e em plantas invasoras, em solo argiloso, no Estado do Paraná. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 293-298, 2006a.

CARNEIRO, R. M. D. G.; MORAES, E. C. Avaliação de resistência de cultivares do tomateiro ao nematoide das galhas, em estufa. **Nematologia Brasileira**, v. 1, n. 17, p. 49-56, 1993.

CARNEIRO, R. M. D. G. et al. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 223-228, 2001.

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

CARNEIRO, R. M. D. G. Uma visão mundial sobre a ocorrência e patogenicidade de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e outras culturas. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 229-230, 2003.

CARNEIRO, R. M. D. G. et al. Resistência de genótipos de algodoeiro a *Meloidogyne incognita* raça 3 : reprodução e histopatologia. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 1-10, 2005.

CARNEIRO, R. M. D. G. et al. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* parasitando plantas de tomate e pimentão resistentes a meloidoginose no estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 81-86, 2006b.

CARPENTER, A. S.; LEWIS, S. A. Aggressiveness and reproduction of four *Meloidogyne arenaria* populations on soybean. **Journal of Nematology**, v. 23, n. 2, p. 232-238, 1991.

CASTAGNONE-SERENO, P. Genetic variability in parthenogenetic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., and their ability to overcome plant resistance genes. **Nematology**, v. 4, n. 5, p. 605-608, 2002.

CASTILLO, P. Host-parasite relationships in root-knot disease of white mulberry. **Plant Disease**, v. 85, n. 3, p. 277-281, 2001.

CORRÊA, C. F.; RODELLA, R. A. Caracterização das fases de desenvolvimento de células gigantes induzidas por *Meloidogyne exigua* em raiz de seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). **Nematropica**, v. 32, n. 2, p. 131-136, 2002.

CORRÊA, C. F. **Alterações anatômicas e fases do desenvolvimento de células gigantes induzidas por nematoides formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.) em raízes de plantas suscetíveis.** 2005. 150 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas/Botânica)–Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

COSTA, D. da C. et al. Estudo comparativo da penetração e desenvolvimento de *Meloidogyne javanica* em raízes de guandu e tomateiro. **Nematologia Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 80-86, 1998.

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

DIAS-ARIEIRA, C. R. et al. Penetração e desenvolvimento de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Heterodera glycines* em quatro gramíneas forrageiras. **Nematologia Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 35-41, 2002.

DIAS, W. P. et al. Reação de genótipos de milho a *Meloidogyne mayaguensis*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF TROPICAL NEMATOLOGY, 2., 2009, Maceió. **Anais...** Maceió: ONTA and SBN, 2009. 1 CD-ROM.

DI VITO, M. et al. Host-parasite relationships of *Meloidogyne incognita* on spinach. **Plant Pathology**, v. 53, p. 508-514, 2004.

DORHOUT, R. et al. Water transport through tomato roots infected with *Meloidogyne incognita*. **Phytopathology**, v. 81, n. 4, p. 379-385, 1991.

DROPKIN, V. H. The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. **Phytopathology**, v. 59, n. 11, p. 1632-1637, 1969.

ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: EDUSP, 1974. 293 p.

FAROOQ, T. The anatomy of a root gall of *Lycopersicon pimpinellifolium* infected by *Meloidogyne incognita*. **Nematologica**, v. 19, n. 1, p. 118-119, 1973.

FASSULIOTIS, G. Genetic basis of plant resistance to nematodes. In: VEECH, A. A.; DICKERSON, D. W. (Eds.). **Vistas on nematology**. Hyattsville, MD: Society of Nematologists, 1987. p. 364-371.

FELTRIN, D. M. et al. Produtividade e qualidade de frutos de cultivares de tomateiro fertirrigado com cloreto e sulfato de potássio. **Revista Ciências Agroveterinárias**, v. 4, p. 17-24, 2005.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMAI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 168-201.

FERRAZ, L. C. C. B. 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, 2001. p. 15-38.

FERREIRA, D. F. **Sisvar**. versão 4.2. Lavras: DEX/UFLA, 2003. 79 p.

FILGUEIRA, F. A. R. **Manual de olericultura**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2000. 402 p.

FINLEY, A. M. Histopathology of *Meloidogyne chitwoodi* on Russet Burbank Potato. **Journal of Nematology**, v. 13, n. 4, p. 486-491, 1981.

GERRITS, P. O. **The application of glycol methacrylate in histotechnology: some fundamental principles**. Netherlands: State University Groningen, 1991. 80 p.

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

GIORDANO, L. B.; SILVA, J. B. C. Clima e época de plantio. In: SILVA, J. B. C; GIORDANO, L. B. (Eds.). **Tomate para processamento industrial**. Brasília, DF: EMBRAPA, CNPH. 2000. p. 60-71.

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

GOMES, C. B. et al. Registro de ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e fumo no Sul do Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 3, p. 244-247, 2008a.

GOMES, M. M. A. C. **Resistência e caracterização histológica de *Pfaffia glomerata* a *Meloidogyne incognita***. 2006. 58 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2006.

GOMES, V. M. et al. Caracterização do estado nutricional de goiabeiras em declínio parasitadas por *Meloidogyne mayaguensis*. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 154-160, 2008b.

GOTO, R. Manejo nutricional no cultivo de hortaliças em estufas. In: ENCONTRO DE HORTALIÇAS, IX E ENCONTRO DE PLASTICULTURA DA REGIÃO SUL, 6., 1995, Maringá. **Palestras e trabalhos apresentados...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 1995. p. 11-18.

GOWEN, S.; QUÉNÉHERVÉ, P. Nematode of banana, plantains and abaca. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture.** Wallingford, UK: CAB International, 1990. p. 431-460.

GRAVATO-NOBRE, M. J.; EVANS, K. Plant and nematode surfaces: their structure and importance in host-parasite interactions. **Nematologica**, v. 44, p. 103-124, 1998.

GUIMARÃES, P. M. et al. The identification of resistances to biotic stress in wild *Arachis* germplasm, and the development of tools for breeding by genetic mapping and comparative genomics. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT MOLECULAR BIOLOGY, 7., 2003, Barcelona. **Proceedings...** Barcelona: ISPMB Office, 2003. p. 23-28.

HERMAM, M. et al. Penetration and development of *Meloidogyne incognita* on roots of resistant soybean genotypes. **Journal of Nematology**, v. 23, n. 2, p. 155-161, 1991.

HO, J. Y. et al. The rootknot nematode resistance gene (*Mi*) in tomato: construction of a molecular linkage map and identification of dominant cDNA markers in resistant genotypes. **Plant Journal**, v. 2, p. 971-982, 1992.

HUANG, C. S. Host-parasite relationships of root knot nematode in edible ginger. **Phytopathology**, v. 56, n. 7, p. 755-759, 1966.

HUANG, C. S.; MAGGENTI, A. R. Wall modifications in developing giant cells of *Vicia faba* and *Cucumis sativus* induced by root knot nematode, *Meloidogyne javanica*. **Phytopathology**, v. 59, n. 7, p. 931-937, 1969.

HUANG, C. S. Formation, anatomy and physiology of giant cells induced by root-knot nematodes. In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. **An advanced treatise on *Meloidogyne*: Biology and Control.** Raleigh, N.C.: North Carolina State University Graphics, 1985. p. 155-164.

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

HUSSEY, R. S.; SASSER, J. N. Peroxidase from *Meloidogyne incognita*. **Physiological Plant Pathology**, v. 3, p. 223-229, 1973.

HUSSEY, R. S.; JANSSEN, G. J. W. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species. In: STARR, J. L.; COOK, R.; BRIDGE, J. **Plant resistance to parasitic nematodes**. Wallingford, UK: CAB International, 2002. p. 43-70.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção, tomate: produção e área (Brasil)**. Rio de Janeiro, 2009. Disponível em:
<<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/horti/default.asp?t=2&z=t&o=19&u1=1&u2=1&u3=1>>.
Acesso em: 1 set. 2009.

JACQUET, M. et al. Variation in resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in tomato genotypes bearing the *Mi* gene. **Plant Pathology**, v. 54, p. 93-99, 2005.

JAEHN, A. **Efeito da temperatura na biologia de três raças de *Meloidogyne incognita* (Tylenchida - *Meloidogyne*) em cafeeiro (*Coffea arabica* L.) e estimativa do número de gerações para o Estado de São Paulo**. 1989. 100 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitopatologia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1989.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book, 1940. 523 p.

JONES, M. G. K.; DROPKIN, V. H. Scanning electron microscopy of nematode induced giant transfer cell. **Cytobios**, v. 5, p. 149-161, 1976.

JONES, M. G. K.; PAYNE, H. L. Early stage of nematodes-induced giant-cells formation in roots of *Impatiens balsamina*. **Journal of Nematology**, v. 10, n. 1, p. 70-84, 1978.

JONES, M. G. K. Host cell responses to endoparasitic nematode attack: structure and function of giant cells and syncytia. **Annals of Applied Biology**, v. 97, p. 353-372, 1981.

- KAPLAN, D. T.; KOEVENIG, J. L. Description of the host-parasite relationship of *Meloidogyne christiei* with *Quercus laevis*. **Revue de Nématologie**, v. 12, n. 1, p. 57-61, 1989.
- KARSSSEN, G.; MOENS, M. Root-knot nematodes. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. (Eds.). **Plant nematology**. Wallingford, UK: CAB International, 2006. p. 59-90.
- KIRKPATRICK, T. L. et al. Interaction of *Meloidogyne incognita* and water stress in two cotton cultivars. **Journal of Nematology**, v. 23, n. 4, p. 462-467, 1991.
- KOKOPELLI SEED FOUNDATION. **Tomates: história e nutrição**. 2007. Disponível em: <http://www.kokopelli-seed-foundation.com/actu/new_news.cgi?id_news=115>. Acesso em: 17 abr. 2008.
- KOSACK-HAMMOND, K. E.; JONES, D. G. J. Resistance gene-dependent plant defense responses. **The Plant Cell**, v. 8, p. 1773-1791, 1996.
- KRUSBERG, L. R.; NIELSEN, L. W. Pathogenesis of root-knot nematodes to the Porto Rico variety of sweet potato. **Phytopathology**, v. 48, p. 30-39, 1958.
- LATORRE, B. A. et al. **Plagas de las hortalizas: manual de manejo integrado**. Santiago: FAO, 1990. 520 p.
- LIMA, I. M. et al. Dispersão de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabais de São João da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros dentre plantas invasoras e cultivadas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 24., 2003, Petrolina. **Resumos...** Petrolina, 2003. p. 139.
- LIMA, I. M. et al. *Meloidogyne* spp. from preserved areas of Atlantic Forest in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 31-38, 2005.
- LIMA, I. M. et al. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira 'Paluma' no Estado do Espírito Santo. **Nematologia Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 133, 2007.

LORDELLO, L. G. E. **Nematoides das plantas cultivadas**. 8. ed. São Paulo: Nobel, 1992. 314 p.

LUC, M.; REVERSAT, G. Possibilités des solutions génétiques aux affections provoquées par les nématodes sur les cultures tropicales. C.r. hebdo Seanc: **French Academy of Agriculture**, v. 71, p. 781-791, 1985.

MALEITA, C. M. et al. Effect of the *Mi* gene on reproduction of *Meloidogyne hispanica* on tomato genotypes. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF TROPICAL NEMATOLOGY, 2., 2009, Maceió. **Anais...** Maceió: ONTA and SBN, 2009. 1 CD-ROM.

MARSCHENER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. San Diego: Academic, 1995. 889 p.

McCLURE, M. A. *Meloidogyne incognita*: a metabolic sink. **Journal of Nematology**, v. 9, p. 88-89, 1977.

MEDEIROS, J. E. et al. Novas plantas hospedeiras de *Meloidogyne mayaguensis*. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNANBUCO, 3., 2003, Recife. **Anais...** Recife: UFRPE, 2003. 1 CD-ROM.

MEDINA-FILHO, H. P.; STEVENS, M. A. Tomato breeding for nematode resistance: survey of resistant varieties for horticultural characteristics and genotype of acid phosphatase. **Acta Horticulturae**, v. 100, p. 383-391, 1980.

MINAMI, K.; HAAG, H. P. **O tomateiro**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1989. 397 p.

MOREIRA, W. A. et al. **Espécies de nematoides das galhas associados a culturas no Submédio São Francisco**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 24., 2003b, Petrolina. **Resumos...** Petrolina: Sociedade Brasileira de Nematologia, 2003a. p. 256-257.

MOREIRA, W. A. et al. Nematoides associados à goiabeira no Vale do Submédio São Francisco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 24., 2003a, Petrolina. **Resumos...** Petrolina: Sociedade Brasileira de Nematologia, 2003b. p. 256-257.

MORITZ, M. P. et al. Estudo comparativo da penetração e reprodução de *Meloidogyne paranaensis* em raízes de cultivares de soja resistente e suscetível. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p.33-40, 2008a.

MORITZ, M. P. et al. Histopatologia comparada das raízes de cultivares suscetível e resistente de soja inoculadas com *Meloidogyne paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 41-49, 2008b.

MOURA, R. M. **Reedição do relatório sobre a moléstia do cafeeiro na Província do Rio de Janeiro, 1887, Emilio Augusto Goeldi**. Recife: UFRPE, 1998. 121 p.

NIBALCK, T.L. et al. Effects of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita* on early growth of soybean. **Journal of Nematology**, v. 18, p. 444, 1986.

NOMBELA, G. et al. The root-knot nematode resistance gene *Mi-1.2* of tomato is responsible for resistance against the whitefly *Bemisia tabaci*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 16, n. 7, p. 645-649, 2003.

O'BRIEN, T.P. et al. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **O Protoplasma**, Vienna, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1964.

OGBUJI, R.O. Giant cell formation in corn roots caused by *Meloidogyne hapla* infection. **Nematologica**, v. 22, p. 62-64, 1976.

OLIVEIRA, D. S. **Patogenicidade de populações de *M. incognita*, provenientes de Minas Gerais e São Paulo, ao cafeeiro**. 2006. 75 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitopatologia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

ORION, D. et al. Inhibition of syncytia formation and root-knot nematode development on cultures of excised tomato roots. **Journal of Nematology**, v. 12, n. 3, p. 198-203, 1980.

OWENS, R. G.; SPECHT, H. N. Root-knot histogenesis. **Plant Research**, v. 22, p. 471-489, 1964.

PAULSON, R. E.; WEBSTER, J. M. Ultrastructure of the hypersensitive reaction in roots of tomato, *Lycopersicon esculentum* L., to infection by the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Physiology Plant Pathology**, v. 2, p. 227-234, 1972.

PEGARD, A. et al. Histological species related to phenolics accumulation in *Capsicum annum*. **Phytopathology**, v. 95, n. 2, p. 158-165, 2005.

PEREIRA, F. O. M. et al. Estimativa do impacto econômico e social direto de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba no Brasil. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF TROPICAL NEMATOLOGY, 2., 2009, Maceió. **Anais...** Maceió: ONTA and SBN, 2009. 1 CD-ROM.

PINHEIRO, J. B. et al. Avaliação de linhagens avançadas de tomateiro industrial para reação ao nematoide das galhas. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF TROPICAL NEMATOLOGY, 2., 2009, Maceió. **Anais...** Maceió: ONTA and SBN, 2009a. 1 CD-ROM.

PINHEIRO, J. B. et al. Programa de melhoramento de *Capsicum* da Embrapa: avaliação de genótipos para reação a *Meloidogyne mayaguensis*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF TROPICAL NEMATOLOGY, 2., 2009, Maceió. **Anais...** Maceió: ONTA and SBN, 2009b. 1 CD-ROM.

PONTES, M. F. C. et al. Penetration and development of *Meloidogyne mayaguensis* in watermelon roots. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF TROPICAL NEMATOLOGY, 2., 2009, Maceió. **Anais...** Maceió: ONTA and SBN, 2009a. 1 CD-ROM.

PONTES, M. F. C. et al. A nuclear dynamics of giant cells induced by *Meloidogyne mayaguensis* in watermelon roots. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF TROPICAL NEMATOLOGY, 2., 2009, Maceió. **Anais...** Maceió: ONTA and SBN, 2009b. 1 CD-ROM.

POTENZA, C. L. et al. Early root response *Meloidogyne incognita* in resistant and susceptible alfafa cultivars. **Journal of Nematology**, v. 28, p. 475, 1996.

PROT, J. C. A naturally occurring resistance breaking biotype of *Meloidogyne arenaria* on tomato: Reproduction and pathogenicity on tomato cultivars Roma and Rossol. **Revue de Nématologie**, v. 7, p. 23-28, 1984.

RAMMAH, A.; HIRSCHMANN, H. *Meloidogyne mayaguensis*, (Meloidogynidae) a root knot nematode from Puerto Rico. **Journal of Nematology**, v. 20, p. 58-69, 1988.

RHODE, R. A. The expression of resistance in plants to nematode. **Annual Review Phytopathology**, v. 10, p. 233-252, 1972.

ROBERTS, P. A. et al. Root-knot nematode resistance in processing tomatoes. **California Agriculture**, v. 40, p. 24-26, 1986.

ROBERTS, P. A. Conceptual and practical aspects of variability in root-knot nematode related host plant resistance. **Annual Review Phytopathology**, v. 33, p. 199-221, 1995.

ROBERTS, P. A. **Concepts and consequences of resistance**. In: _____. **International plant resistance to parasitic nematodes**, Wallingford: CAB International, 2002. p. 23-41.

RODRIGUEZ, M. G. **Identificación y caracterización de *Meloidogyne mayaguensis* (Nemata: Meloidogynidae) en le cafeto en Cuba**. 2000. 100 p. Thesis (PhD)-Universidad Agraria de La Habana, La Habana, Cuba, 2000.

RODRIGUEZ, M. G. et al. Host status of agriculturally important plant families to the root knot nematode *Meloidogyne mayaguensis* in Cuba. **Nematropica**, v. 33, n. 2, p. 125-130, 2003.

ROSSI, M. et al. The nematode resistance gene *Mi* of tomato confers resistance against the potato aphid. **Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.**, v. 95, n. 17, p. 9750-9754, 1998.

RUSSEL, R. S. **Plant root systems: their function and interaction with the soil**. Berkshire: McGraw-Hill Book, 1977. 298 p.

SAIGUSA, T. On the egg development and its morphological observations of the root-knot nematode, *Meloidogyne* spp. **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology**, v. 1, p. 238-243, 1957.

SANTOS, J. M. **Estudos das principais espécies de *Meloidogyne Goeldi* que infectam o cafeeiro no Brasil com descrição de *Meloidogyne goeldii* SP**. 1997. 153 f. Tese (Doutorado

em Agronomia)-Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

SASANELLI, N.; PIERANGELI, D. Response of selected forest trees to *Meloidogyne incognita* infection. **Nematology Mediterranean**, v. 22, p. 83-85, 1994.

SCHAFF, J. E. et al. Comprehensive transcriptome profiling in tomato reveals a role for Glycosyltransferase in *Mi*-mediated nematode resistance. **Plant Physiology**, v. 144, p. 1079-1092, 2007.

SCHMIDT, D. et al. Potencial produtivo de tomate cultivado com alta densidade, em hidroponia. **Horticultura Brasileira**, v. 18, p. 273-274, 2000.

SIDDIQI, I. A.; TAYLOR, D. P. Histopathogenesis of galls induced by *Meloidogyne naasi* in wheat roots. **Journal of Nematology**, v. 2, n. 3, p. 239-247, 1970.

SIJMONS, P. C. et al. Parasitic strategies of root-knot nematodes and associated host cell responses. **Annual Review Phytopathology**, v. 32, p. 235-259, 1994.

SILVA, G. S. et al. Histopatologia de raízes de crotalária parasitadas por *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, n. 1, p. 46-48, 1990.

SILVA, G. S. et al. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado do Piauí. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 307-309, 2006.

SILVA, G. S. et al. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no Estado do Maranhão. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 3, p. 242-243, 2008b.

SILVA, J. B. C. **Cultivo de tomate para industrialização**: importância econômica. Gama: EMBRAPA Hortaliças, 2003. (Sistema de produção, 1). Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial/importancia.htm#topo>>. Acesso em: 26 abr. 2008.

SILVA, J. B. C.; GIORDANO, L. B. **Tomate para processamento industrial**. Brasília, DF: EMBRAPA Comunicação para Transferência de Tecnologia; EMBRAPA Hortaliças, 2000. 168 p.

SILVA, J. G. P. et al. Reaction of accessions of passionfruit (*Passiflora* spp.) to *Meloidogyne mayaguensis*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF TROPICAL NEMATOLOGY, 2., 2009, Maceió. **Anais...** Maceió: ONTA and SBN, 2009. 1 CD-ROM.

SILVA, R. V. et al. Efeito do gene *Mi* na reprodução de populações de *Meloidogyne exigua* em tomateiro. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 150-153, 2008a.

SNEATH, P. H. A; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy**. San Francisco: W. H. Freeman, 1973. 573 p.

SOUSA, M. G. et al. Reaction of *Psidium* spp. to *Meloidogyne mayaguensis* and their grafting compatibility with *P. guajava* cv. Paluma. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF TROPICAL NEMATOLOGY, 2., 2009, Maceió. **Anais...** Maceió: ONTA and SBN, 2009. 1 CD-ROM.

SOUTHEY, J. F. (Ed.). **Principles of sampling for nematodes**: Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. 6th ed. London, UK: Ministry of Agriculture, Fisheries and food, 1986. 202 p.

SOUZA, L. A. et al. **Morfología e anatomia vegetal**: técnicas e práticas. Ponta Grossa: UEPG, 2005. 194 p.

TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* sp.)**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1978. 111 p.

TAYLOR, B. Biosystematics of the tomato. In: ATHERTON, J. G.; RUDICH, J. **The tomato crop**: a scientific basis for improvement. New York: Chapman and Hall, 1986. p. 1-30.

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

TORRES, G. R. C. et al. *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 5, p. 570, 2004.

TORRES, G. R. C. et al. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no estado do Ceará. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 105-107, 2005.

- TRIANANTAPHYLLOU, A. C.; HIRSCHMANN, H. Post Infection Development of *Meloidogyne incognita* Chitwood 1949 (Nematoda: Heteroderidae). **Annales de L'Institut Phytopathologique**, Benaki, v. 3, p. 1-11, 1960.
- TRUDGILL, D. L. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. **Annual Review Phytopathology**, v. 29, p. 167-193, 1991.
- VAN DER EYCKEN, W. et al. A molecular study of root-knot nematode-induced feeding sites. **Plant Journal**, v. 9, n. 1, p. 45-54, 1996.
- VEECH, J. A. et al. Production and partial characterization of stylet exudate from adult females of *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, v. 19, n. 4, p. 463-468, 1987.
- VEREMIS, J. C.; ROBERTS, P. A. Identification of resistance to *Meloidogyne javanica* in the *Lycopersicon peruvianum* complex. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 93, p. 894-901, 1996.
- VOVLAS, N.; Di VITO, M. Effect of root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* on the growth of coffee (*Coffea arabica* L.) in pots. **Nematology Mediterranean**, v. 19, p. 253-258, 1991.
- ZACHEO, G. et al. Biochemistry of plant defense responses to nematode infection. In: FENOLL, C.; GRUNDLER, F. M. W.; OHL, S. A. (Eds.). **Cellular and molecular aspects of plant-nematode interactions**. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic, 1997. p. 201-213.
- ZIMMERMAN, M. H.; McDONOUGH, J. Dysfunction in the flow of food. In: HOSRFALL, J.G.; COWLING, E. B. (Eds.). **Plant disease: an advanced treatise**. New York: Academic Press, 1978. p. 117-140.
- WALLACE, H. R. **Nematode ecology and plant disease**. New York: Crane e Russak, 1973. 228 p.
- WANDERLEY, M. J. A.; SANTOS, J. M. Resistance of sweet potato cultivars to *Meloidogyne incognita*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 437-440, 2004.
- WARNOCK, S. J. Natural habitats of *Lycopersicon* species. **Hortsciense**, v. 26, n. 5, p. 466-471, 1991.

WEBBER, H. J.; ORTON, W. A. **Some diseases of cowpea:** a cowpea resistant to root knot (*Heterodera radicicola*). Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Bureau of Plant Industry, 1902. v. 2. (Bulletin, n. 17).

WILLIAMSON, V. M. Root-knot nematode resistance genes in tomato and their potential for future use. **Annual Review Phytopathology**, v. 36, p. 277-293, 1998.

YAGHOUBI, J. et al. Mapping a new nematode resistance locus in *Lycopersicon peruvianum*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 91, p. 457-464, 1995.

YOUSIF, G. M. Histological responses of four leguminous crops infected with *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, v. 11, n. 4, p. 396-401, 1979.

APÊNDICE

Quadro 1. Média do número de indivíduos de *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) e *Meloidogyne javanica* (Mj) em porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ (M) e ‘Helper M’ (H), aos 3 dias após a inoculação. (Média referente a cinco repetições).

Tratamentos	J2a	J2b	J3	J4	F1	F2	M
M-Mj	-	-	-	-	-	-	-
H-Mj	-	-	-	-	-	-	-
M-Mm	20	-	-	-	-	-	-
H-Mm	32,4	-	-	-	-	-	-

Quadro 2. Média do número de indivíduos de *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) e *Meloidogyne javanica* (Mj) em porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ (M) e ‘Helper M’ (H), aos 10 dias após a inoculação. (Média referente a cinco repetições).

Tratamentos	J2a	J2b	J3	J4	F1	F2	M
M-Mj	26,5	2,6	-	-	-	-	-
H-Mj	21,2	1,2	-	-	-	-	-
M-Mm	50,6	23,8	-	-	-	-	-
H-Mm	138,2	18,8	-	-	-	-	-

Quadro 3. Média do número de indivíduos de *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) e *Meloidogyne javanica* (Mj) em porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ (M) e ‘Helper M’ (H), aos 17 dias após a inoculação. (Média referente a cinco repetições).

Tratamentos	J2a	J2b	J3	J4	F1	F2	M
M-Mj	5,2	-	-	-	-	-	-
H-Mj	13,4	-	-	-	-	-	-
M-Mm	3,6	6,8	49,8	15,4	2,8	-	-
H-Mm	4,8	22,4	23	8,8	4,4	-	-

Quadro 4. Média do número de indivíduos de *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) e *Meloidogyne javanica* (Mj) em porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ (M) e ‘Helper M’ (H), aos 24 dias após a inoculação. (Média referente a cinco repetições).

Tratamentos	J2a	J2b	J3	J4	F1	F2	M
M-Mj	1,8	1,6	-	-	-	-	-
H-Mj	3	1,4	-	-	-	-	-
M-Mm	1,2	3,4	13,2	7,6	6,2	18,6	3,6
H-Mm	14,6	4,6	18,4	5,8	2,4	19,8	4

Quadro 5. Média do número de indivíduos de *Meloidogyne mayaguensis* (Mm) e *Meloidogyne javanica* (Mj) em porta-enxertos de tomateiro ‘Magnet’ (M) e ‘Helper M’ (H), aos 31 dias após a inoculação. (Média referente a cinco repetições).

Tratamentos	J2a	J2b	J3	J4	F1	F2	M
M-Mj	18,2	-	-	-	-	-	-
H-Mj	30	-	-	-	-	-	-
M-Mm	77,2	1	2,8	4,6	28	43,6	2,8
H-Mm	22,2	1	5	6,6	13,8	47,8	2,2