

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



Tese

**Diversidade, agressividade e patogenicidade de *Meloidogyne* spp.
em cana-de-açúcar e prospecção da resistência genética em
genótipos adaptados ao sul do Brasil**

CRISTIANO BELLÉ

Pelotas, 2018

CRISTIANO BELLÉ

**Diversidade, agressividade e patogenicidade de *Meloidogyne* spp.
em cana-de-açúcar e prospecção da resistência genética em
genótipos adaptados ao sul do Brasil**

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

Orientador: Dr. Cesar Bauer Gomes

Coorientadora: Dr^a. Danielle Ribeiro de Barros

Pelotas, 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

B433d Bellé, Cristiano

Diversidade, agressividade e patogenicidade de *Meloidogyne* spp. em cana-de-açúcar e prospecção da resistência genética em genótipos adaptados ao sul do Brasil / Cristiano Bellé ; Cesar Bauer Gomes, orientador ; Danielle Ribeiro de Barros, coorientadora. — Pelotas, 2018.

155 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. *Saccharum* spp. 2. Nematóide-das-galhas. 3. Variabilidade intraespecífica. I. Gomes, Cesar Bauer, orient. II. Barros, Danielle Ribeiro de, coorient. III. Título.

CDD : 633.61

CRISTIANO BELLÉ

Diversidade, agressividade e patogenicidade de *Meloidogyne* spp. em cana-de-açúcar e prospecção da resistência genética em genótipos adaptados ao sul do Brasil

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

Data da Defesa: 09 de março de 2018

Banca examinadora:

.....
Dr. Cesar Bauer Gomes (Orientador)
Doutor em Agronomia (Fitopatologia) pela Universidade de Viçosa

.....
Prof. Dr^a. Danielle Ribeiro de Barros
Doutora em Agronomia (Fitopatologia) pela Universidade de Viçosa

.....
Prof. Dr. Jerônimo Vieira de Araújo Filho
Doutor em Agronomia (Fitopatologia) pela Universidade de São Paulo

.....
Prof. Dr^a. Stela Maris Kulczynski
Doutora em Fitotecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

.....
Prof. Dr^a. Andréa Chaves Fiuza Porto
Doutora em Fitopatologia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco

*Aos meus pais Jaime e Janete
pelo apoio e pelo exemplo de persistência.*

OFEREÇO E DEDICO

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida e por estar ao meu lado em todos os momentos.

À Universidade Federal de Pelotas (UFPel) pela oportunidade da realização do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) Clima Temperado por permitir que o trabalho de tese fosse realizado em suas dependências e pelo aparato fornecido.

Ao meu orientador Dr. Cesar Bauer Gomes, pela orientação, amizade e confiança depositada. E, pelos ensinamentos, incentivos que foram cruciais para a concretização deste trabalho.

À professora e coorientadora Dr^a. Danielle Ribeiro de Barros por ter acreditado em mim. Agradeço também pelos seus ensinamentos, amizade, paciência e carinho.

Aos Professores do Departamento de Fitossanidade, pelos ensinamentos profissionais, pessoais e pelo convívio.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Clima Temperado, Renata Moccellin, Danrley Pacheco, Eduardo Heller, Mauricio Haubert, Margareth Divers, Victor Hugo, Jaqueline Schafer, Janaina Bernardo, Israel Lima, Fernanda Cruz, Daniele de Brum, Gabriele de Paula, Juliane Bretanha, Maria Diel, Valéria Ortaça e Carol Becker pelo carinho e ajuda sempre inegável durante a execução do trabalho.

Agradecimento especial a três amigos que a Embrapa me proporcionou, Renata Moccellin, Mauricio Haubert e Danrley Pacheco, pelos cafés, bolos das quartas, pela ajuda, paciência e pelos momentos de descontração na reta final do meu trabalho. Vou sentir muitas saudades.

Aos colegas e amigos da Fitopatologia, Keilor Dorneles, Mauricio Sangiogo, Elen Bonilha, Daniela Rodriguez, Carla Tunes, Silvia Maich, Priscila Rossatto, Renata Moccellin, Jaqueline Schafer, Carolina Neves, Monique Nascimento, Johan Murcia, Alfonso Arellano, Luis Yanez-Marquez, Anderson Brunetto, Wellington Rodrigues, Paulo Pazdiora, Juan Rivera, Fábio Silva, Bianca Corrêa, Victoria Moreira e Viviana Gavia, pela parceria e bons momentos de convivência sempre.

Aos funcionários do Departamento de Fitossanidade, Sérgio Freitas e Rosária Azambuja.

Aos funcionários da Embrapa Clima Temperado Claudiomar Amaral, Gelson Krolow, Cândida Montero e Vilmar Gonçalves pela ajuda prestada e os bons momentos de descontração nestes anos de Embrapa.

Aos amigos do Laboratório de Virologia, Carol, Monique, Silvia e Ismail Teodoro pela ajuda prestada, apoio e os ótimos momentos de descontração; e, em especial a professora Danielle de Barros pela iniciação na biologia molecular.

Ao Pesquisador Dr. Sergio Delmar dos Anjos e Silva pelos ensinamentos e incentivos que foram cruciais para a concretização deste trabalho.

Aos colegas e amigos do grupo Agroenergia, por toda ajuda na condução dos experimentos e demais momentos, em especial a Ester Schiavon e Francis Tatto.

Aos colegas do Laboratório de Nematologia da Embrapa Cenargen, Vanessa Mattos, Marcilene Fernandes e Jessica Monteiro pela ajuda prestada em especial a Dr^a. Regina Gomes Carneiro pelo apoio e pelas ótimas dicas.

À Dr^a. Andressa Machado pelo envio das sementes do teste de hospedeiros diferenciadores.

À minha amiga, Juliane Schmitt por estar sempre ao meu lado (mesmo distante), disposta a ajudar e compartilhar momentos inesquecíveis, muito obrigado!

Aos grandes amigos Martín Zanchett Groth, Tiago Edu Kaspary e Paulo Roberto Kuhn, pela amizade, companheirismo, conselhos e incentivo no logo destes anos;

À Kassia Cocco, mais que amiga uma irmã, pela amizade, parceria, conselhos, puxões de orelha e companheirismo durante os mais de 10 anos de amizade e convivência.

Aos meus pais, Jaime e Janete Bellé, que sempre me apoiaram e ensinaram a nunca desistir dos meus sonhos.

À banca examinadora pela disponibilidade e contribuição no trabalho.

Enfim, agradeço imensamente àquelas pessoas que, de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para que eu pudesse concluir mais uma etapa em minha vida.

A TODOS MEU MUITO OBRIGADO!!

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante de meus olhos”.

(Isaac Newton)

Resumo

Bellé, Cristiano. **Diversidade, agressividade e patogenicidade de *Meloidogyne* spp. em cana-de-açúcar e prospecção da resistência genética em genótipos adaptados ao sul do Brasil.** 2018. Tese (Doutorado em Fitossanidade) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

Entre os problemas que afetam a cultura da cana-de-açúcar, os fitonematoides podem resultar em sérios prejuízos. Nesse sentido, o presente estudo foi dividido em três capítulos. No primeiro, populações de *Meloidogyne* spp. advindas de coletas em regiões canavieiras do Rio Grande do Sul, foram caracterizadas bioquímica e fisiologicamente através da enzima esterase (Est) sendo parte delas, avaliadas quanto as raças fisiológicas. A seguir, 35 populações de *Meloidogyne* spp. provenientes deste estudo e do trabalho de Bellé (2014), foram caracterizadas molecularmente por marcadores do tipo SCAR e RAPD. No segundo capítulo, avaliou-se a agressividade de diferentes populações de *M. javanica* e *M. incognita* em diferentes genótipos de cana-de-açúcar. E, no terceiro, avaliou-se, em casa de vegetação, a reação de 25 genótipos de cana-de-açúcar a *M. incognita* e *M. javanica* além dos efeitos dessas espécies sobre o desenvolvimento das plantas inoculadas; e, o comportamento de plantas parasitadas por *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* quanto à reprodução, desenvolvimento vegetativo, produção de colmos, açúcares e componentes da parede celular da parte aérea. Por fim, estudou-se a patogenicidade de espécies de *Meloidogyne* de menor frequência em cana-de-açúcar. Verificou-se a presença de *Meloidogyne* spp. em 92,6% das amostras coletadas, sendo *M. incognita* Est I2, a espécie mais frequente (51,3%). Entre as populações de *M. incognita* caracterizadas fisiologicamente, identificou-se as raças 1, 2, 3 e 4, todavia, não foi possível correlacioná-las com os respectivos fenótipos de esterase. Através dos marcadores SCAR foi possível a diferenciação da maioria das espécies de *Meloidogyne* estudadas, através da amplificação de fragmentos espécie-específicos para populações de *M. javanica* (670 pb), *M. incognita* (399 pb), *M. arenaria* (420 pb), *M. morocciensis* (420 pb), *M. ethiopica* (350 pb) e *M. enterolobii* (520 pb). Pela análise RAPD, 234 e 394 fragmentos reprodutíveis foram amplificados, cuja percentagem de bandas polimórficas amplificadas variou de 21,0 a 31,5%, respectivamente. Pela análise filogenética, quatro grupos se formaram: no 1º, agruparam-se 16 populações de *M. javanica*; no 2º, *M. arenaria* e *M. morocciensis*; no 3º, *M. incognita* e *Meloidogyne* sp. Est. SC1; e, *M. ethiopica*, *M. luci* e *M. enterolobii* se agruparam separadamente. Avaliando-se a agressividade das populações de *Meloidogyne* spp., verificou-se, interação significativa entre genótipos de cana-de-açúcar e populações dos nematoides para as variáveis relacionadas a reprodução e danos causados nas raízes, assim como também em relação aos parâmetros de crescimento das plantas, digestibilidade de fibras, açúcares e componentes da parede celular. Em relação à reação da cana-de-açúcar a *M. javanica* e *M. incognita*, todos os genótipos foram suscetíveis (diferentes graus), havendo interferência dessas espécies sobre o desenvolvimento das plantas. Nos testes de patogenicidade, *M. luci*, *M. enterolobii*, *M. morocciensis*, *M. hapla*, *M. arenaria* e *M. ethiopica* reproduziram-se (10,2>FR<50,5) em cana-de-açúcar, e afetaram negativamente o desenvolvimento vegetativo da cultura.

Palavras-chaves: *Saccharum* spp., nematoide-das-galhas, ocorrência, variabilidade intraespecífica, suscetibilidade.

Abstract

Bellé, Cristiano. **Diversity, aggressiveness and pathogenicity of *Meloidogyne* spp. in sugarcane and prospect of genetic resistance in genotypes adapted to Southern Brazil.** 2018. Thesis (Doctorate degree in Plant Protection) – Plant Protection Graduate Program. Federal University of Pelotas, Pelotas, 2018.

Among the problems affecting sugarcane crop, plant-parasitic nematodes can result in potential crop damage. The present study was carried out in three chapters. In the first, *Meloidogyne* spp. populations sampled in sugarcane location of Rio Grande do Sul state, were characterized through the esterase (Est) activity where part of them were evaluated as the physiological races. Subsequently, 35 populations of *Meloidogyne* spp. from this study and the work of Bellé (2014) were molecularly characterized by SCAR and RAPD markers. In the second chapter, efforts were done to evaluate the aggressiveness of different populations of *M. javanica* and *M. incognita* in different sugarcane genotypes. The last step of this study aimed to evaluate the reaction of 25 sugarcane genotypes to *M. incognita* and *M. javanica*. Additionally, the effects of two root-knot species was monitored based on the development of inoculated plants(a); the response of parasitized plants by *M. incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* on the *Meloidogyne* spp. reproduction, vegetative development, shoot production, content sugars and components of the shoot cell wall of sugarcane plants. Finally, the pathogenicity of low-frequency *Meloidogyne* species were quantified. *Meloidogyne* spp. was detected at 92.6% of the collected samples and *M. incognita* Est I2 was the most frequent species (51.3%). Among *M. incognita* populations physiologically characterized, the races 1, 2, 3 and 4 were identified; however, it was not possible to correlate them with the respective esterase phenotypes. The use of SCAR markers allowed to differentiate most of the *Meloidogyne* populations by amplifying species-specific fragments for *M. javanica* (670 bp), *M. incognita* (399 bp), *M. arenaria* (420 bp) and *M. javanica* (670 bp), *M. morocciensis* (420 bp), *M. ethiopica* (350 bp) and *M. enterolobii* (520 bp). By RAPD analysis, 234 and 394 reproducible fragments were amplified, whose the percentage of amplified polymorphic bands ranged from 21.0 to 31.5%, respectively. By the phylogenetic analysis, four groups were formed: in the first one, 16 populations of *M. javanica* were grouped; in the second, *M. arenaria* and *M. morocciensis*; in the third, *M. incognita* and *Meloidogyne* sp. Est. SC1; and, *M. ethiopica*, *M. luci* and *M. enterolobii* were grouped separately. Evaluating the aggressiveness of the populations of *Meloidogyne* spp., there was a significant interaction between sugarcane genotypes and nematode populations for the variables related to nematode reproduction and damage caused in the roots, as well as growth plant parameters, fiber digestibility, sugars content and cell wall components. Considering the sugarcane reaction to *M. javanica* and *M. incognita*, all genotypes were susceptible in different degrees; these nematode species interfered on the development of the plants. Evaluating the pathogenicity of *M. luci*, *M. enterolobii*, *M. morocciensis*, *M. hapla*, *M. arenaria* and *M. ethiopica*, all species reproduced (10.2 > RF <50.5) on sugarcane and affected negatively the vegetative development of this crop.

Keywords: *Saccharum* spp., root-knot nematode, molecular marker, intraspecific variability, susceptibility.

Lista de Figuras

- Figura 1 - Localização e distribuição espacial de *Meloidogyne* spp. por município em áreas de cultivo de cana-de-açúcar nas regiões da Serra Gaúcha, Litoral Norte, Central e Sul do Rio Grande do Sul.....35
- Figura 2- Fenótipos de esterase (Est) detectados em populações de *Meloidogyne* spp. coletadas em áreas de cultivo de cana-de-açúcar nas regiões da Serra Gaúcha, Litoral Norte, Central e Sul do Rio Grande do Sul (J3 – *M. javanica*; J2a – *M. javanica*; I2 – *M. incognita*; A2 – *M. arenaria*; E3 – *M. ethiopica*; M2 – *M. enterolobii*; A3 – *M. morocciensis*; L3 – *M. luci*; H1 – *M. hapla*). 38
- Figura 3 - Padrão de amplificação de SCAR-PCR para populações de *Meloidogyne* spp. parasitando cana-de-açúcar, no Rio Grande do Sul. Códigos das populações estão listados na tabela 1. M: 1 kb DNA plus ladder (Invitrogen); (C–): controle negativo.45
- Figura 4 - Polimorfismo de fragmentos de DNA de 35 populações de *Meloidogyne* spp., gerado pelo primer OP E-18. As reações foram realizadas em duplicata e a eletroforese em dois géis separados, sendo um a cópia do outro. (-): reação controle sem DNA; M: marcador de peso molecular 1kb Plus DNA Ladder.....46
- Figura 5 - Dendrograma dos dados obtidos com marcadores RAPD de *Meloidogyne* spp. Códigos em negrito indicam as espécies e populações discriminadas na Tabela 1. Números próximos aos nós indicam as probabilidades de similaridade. Nós sem valores indicam similaridade abaixo de 50%.....49
- Figura 6 - Esquema de numeração de folhas de um colmo de cana-de-açúcar conforme sistema proposto por Kuijper (DILLEWIJN, 1952).58
- Figura 7 - Massa fresca dos colmos (MFC) de plantas de cana-de-açúcar 'RB867515' inoculadas ou não com *Meloidogyne* spp..... 109
- Figura 8 - Redução no desenvolvimento de planta de cana-de-açúcar, variedade RB72454, infectada com *Meloidogyne ethiopica*, em casa de vegetação, planta da esquerda sem a presença de *M. ethiopica* e a da direita com *M. ethiopica*. 117

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Código das populações utilizadas nas análises RAPD, origem geográfica, espécie de <i>Meloidogyne</i> e fenótipos de esterase presentes em amostras coletadas em áreas de cana-de-açúcar do estado do Rio Grande do Sul.	29
Tabela 2 - Primers utilizados nas reações de PCR-SCAR para a identificação de espécies de <i>Meloidogyne</i>	31
Tabela 3 - Primers RAPD e suas respectivas sequências 5'-3' utilizados em reações de PCR para o estudo da variabilidade genética de populações de <i>Meloidogyne</i> spp. provenientes de cana-de-açúcar do Rio Grande do Sul.	33
Tabela 4 - Fenótipos isoenzimáticos de esterase e suas respectivas percentagens de ocorrência e níveis populacionais/amostra observados em populações de <i>Meloidogyne</i> spp. provenientes de áreas de cultivo de cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul, onde foi detectada a presença do nematoide-das-galhas.	36
Tabela 5 - Identificação de raças de <i>Meloidogyne incognita</i> através do teste de plantas hospedeiras diferenciadoras, em oito populações de <i>M. incognita</i> utilizadas no estudo de diversidade genética de populações.	43
Tabela 6 - Proporção de fragmentos polimórficos de RAPD observados a nível de espécie para trinta e cinco populações de <i>Meloidogyne</i> spp. provenientes de cultivo de cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul.	47
Tabela 7 - Populações de <i>Meloidogyne</i> utilizadas no estudo de agressividade, origem geográfica, espécies e os respectivos fenótipos de esterase.	55
Tabela 8- Número de galhas nas raízes, número de nematoides (ovos + J ₂) por grama de raiz e fator de reprodução de <i>Meloidogyne javanica</i> em dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de <i>M. javanica</i>	62
Tabela 9 - Massa fresca do sistema radicular, massa fresca da parte aérea e altura de plantas em de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de <i>Meloidogyne javanica</i>	63
Tabela 10 - Número de perfilho, diâmetro do colmo e área foliar de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de <i>Meloidogyne javanica</i>	64

Tabela 11 – Índice de clorofila a, b e total de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de <i>Meloidogyne javanica</i>	65
Tabela 12 – Teor de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de <i>Meloidogyne javanica</i>	66
Tabela 13 – Teor de lignina (%), celulose (%) e hemicelulose (%) da parte área de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de <i>Meloidogyne javanica</i>	67
Tabela 14 - Número de galhas nas raízes, número de nematoides (ovos + J ₂) por grama de raiz e fator de reprodução de <i>Meloidogyne incognita</i> em dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de <i>M. incognita</i>	71
Tabela 15 - Massa fresca do sistema radicular, massa fresca da parte aérea e altura de plantas em de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de <i>Meloidogyne incognita</i>	72
Tabela 16 - Número de perfilho, diâmetro do colmo e área foliar de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de <i>Meloidogyne incognita</i>	73
Tabela 17 – Índice de clorofila a, b e total de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de <i>Meloidogyne incognita</i>	74
Tabela 18 – Teor fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de <i>Meloidogyne incognita</i>	75
Tabela 19 – Teor de lignina (%), celulose (%) e hemicelulose (%) da parte área de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de <i>Meloidogyne incognita</i>	76
Tabela 20 - Espécies <i>Meloidogyne</i> e variedades de cana-de-açúcar usadas no teste de patogenicidade.	88
Tabela 21 - Número médio de galhas em raízes de diferentes genótipos de cana-de-açúcar inoculados com <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>Meloidogyne javanica</i> , em casa de vegetação.	92
Tabela 22 – Fator de reprodução de <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>Meloidogyne javanica</i> em diferentes genótipos de cana-de-açúcar.	93

Tabela 23 - Número de nematoides (ovos + J ₂) por grama de raiz de <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>Meloidogyne javanica</i> em diferentes genótipos de cana-de-açúcar.....	94
Tabela 24 - Massa fresca da parte aérea (MFPA) de genótipos cana-de-açúcar inoculados ou não com <i>Meloidogyne incognita</i> ou <i>Meloidogyne javanica</i>	95
Tabela 25 - Massa fresca do sistema radicular (MFSR) de genótipos cana-de-açúcar inoculados ou não com <i>Meloidogyne incognita</i> ou <i>Meloidogyne javanica</i>	96
Tabela 26 –Altura de plantas (AP) de genótipos cana-de-açúcar inoculados ou não com <i>Meloidogyne incognita</i> ou <i>Meloidogyne javanica</i>	97
Tabela 27 –Diâmetro do colmo (DC) de genótipos cana-de-açúcar inoculados ou não com <i>Meloidogyne incognita</i> ou <i>Meloidogyne javanica</i>	98
Tabela 28 –Número de perfilhos (NP) de genótipos cana-de-açúcar inoculados ou não com <i>Meloidogyne incognita</i> ou <i>Meloidogyne javanica</i>	99
Tabela 29 –Área foliar (AF) de genótipos cana-de-açúcar inoculados ou não com <i>Meloidogyne incognita</i> ou <i>Meloidogyne javanica</i>	100
Tabela 30 – Número de galhas (NG), número de nematoides por grama de raiz (NNGR) e fator de reprodução (FR) de <i>Meloidogyne arenaria</i> , <i>Meloidogyne javanica</i> e <i>Meloidogyne incognita</i> em planta de cana-de-açúcar ‘RB867515’.....	106
Tabela 31 – Valores de Massa fresca do sistema radicular (MFSR), Massa fresca da parte aérea (MFPA), Altura de plantas (AP), Número de perfilho (NP), Número de colmos (NC) e Diâmetro do colmo (DC) em plantas de cana-de-açúcar ‘RB867515’ inoculadas ou não com <i>Meloidogyne</i> spp.	106
Tabela 32 – Valores de Massa fresca dos colmos (MFC), volume de caldo (VC), Área foliar (cm ² planta ⁻¹), índice de clorofila a (CLO a), clorofila b (CLO b), clorofila total (CLO total) em plantas de cana-de-açúcar ‘RB867515’ inoculadas ou não com <i>Meloidogyne</i> spp.....	107
Tabela 33 – Valores de Fibra em detergente neutro (FDN), Fibra em detergente ácido (FDA), Lignina (Lig), Celulose (Cel), Hemicelulose (Hemicel) em plantas de cana-de-açúcar ‘RB867515’ inoculadas ou não com <i>Meloidogyne</i> spp.	107
Tabela 34 – Porcentagem de sólidos presentes dissolvidos na água (°Brix), teor de sacarose aparente do caldo (POL) e açúcares redutores do caldo (AR) em	

plantas de cana-de-açúcar RB867515 inoculadas ou não com <i>Meloidogyne</i> spp.....	107
Tabela 35 – Efeitos da inoculação de <i>Meloidogyne luci</i> e <i>Meloidogyne enterolobii</i> no desenvolvimento de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e na sua reprodução sobre a cultura, em casa de vegetação.....	113
Tabela 36 – Efeitos da inoculação de <i>Meloidogyne morocciensis</i> e <i>Meloidogyne hapla</i> no desenvolvimento de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e na sua reprodução sobre a cultura, em casa de vegetação.....	114
Tabela 37 – Efeitos da inoculação de <i>Meloidogyne arenaria</i> (Est. A2 e A1) no desenvolvimento de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e na sua reprodução sobre a cultura, em casa de vegetação.....	115
Tabela 38 – Efeitos da inoculação de <i>Meloidogyne ethiopica</i> no desenvolvimento em genótipo de cana-de-açúcar e na sua reprodução sobre a cultura, em casa de vegetação.....	115

Sumário

1 INTRODUÇÃO GERAL	18
2 CAPÍTULO I - OCORRÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO DO NEMATOIDE-DAS-GALHAS (<i>Meloidogyne</i> spp.) EM CANA-DE-AÇÚCAR NO RIO GRANDE DO SUL	23
2.1 Introdução	23
2.2 Material e Métodos	26
2.2.1 Ocorrência e distribuição do nematoide-das-galhas (<i>Meloidogyne</i> spp.) em regiões produtoras de cana-de-açúcar do Rio Grande do Sul	26
2.2.1.1 Caracterização bioquímica das espécies de <i>Meloidogyne</i>	27
2.2.2 Caracterização fisiológica das populações de <i>Meloidogyne incognita</i>	28
2.2.3 Caracterização molecular das populações de <i>Meloidogyne</i> spp. proveniente de áreas com cana-de-açúcar do Rio Grande do Sul	28
2.2.3.1 Extração de ovos de <i>Meloidogyne</i> spp.	28
2.2.3.2 Extração, purificação e precipitação do DNA	30
2.2.3.3 Identificação de espécies por marcadores moleculares tipo SCAR	31
2.2.3.4 Análise molecular com marcador RAPD	32
2.2.3.5 Análise filogenética.....	32
2.3 Resultados e Discussão	34
2.3.1 Ocorrência e distribuição do nematoide-das-galhas (<i>Meloidogyne</i> spp.) em regiões produtoras de cana-de-açúcar nas regiões da Serra Gaúcha, Litoral Norte, Central e Sul do Rio Grande do Sul	34
2.3.2 Caracterização fisiológica das populações de <i>Meloidogyne incognita</i>	42
2.3.3 Identificação das populações de <i>Meloidogyne</i> spp. por marcadores moleculares tipo SCAR.....	43
2.3.4 Diversidade genética de populações de <i>Meloidogyne</i> sp. por marcadores moleculares RAPD	46
2.4 Conclusões.....	52
3 CAPÍTULO II - AGRESSIVIDADE DE POPULAÇÕES DE <i>Meloidogyne</i> spp. em DIFERENTES GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR	53
3.1 Introdução	53
3.2 Material e métodos	55
3.3 Resultados e discussão.....	59

3.4 Conclusões.....	82
4 CAPÍTULO III - REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR A <i>Meloidogyne javanica</i> E <i>Meloidogyne incognita</i> E PATOGENICIDADE DE OUTRAS ESPÉCIES DO NEMATOIDE-DAS-GALHAS NA CULTURA	83
4.1 Introdução	83
4.2 Material e Métodos	85
4.2.1 Reação de genótipos de cana-de-açúcar a <i>Meloidogyne</i> spp. e prospecção dos danos causados pelo nematoide.....	85
4.2.2 Impacto de diferentes espécies <i>Meloidogyne</i> no desenvolvimento de plantas de cana-de-açúcar	86
4.2.3 Patogenicidade de <i>Meloidogyne</i> spp. em diferentes variedades de cana-de-açúcar	88
4.3 Resultados de discussão.....	89
4.3.1 Reação de genótipos de cana-de-açúcar a <i>Meloidogyne</i> spp. e prospecção dos danos causados pelo nematoide.....	89
4.3.2 Impacto de diferentes espécies de <i>Meloidogyne</i> no desenvolvimento das plantas de cana-de-açúcar	105
4.3.3 Patogenicidade de outras espécies de <i>Meloidogyne</i> spp. em cana-de-açúcar	112
4.4 Conclusões.....	118
5 CONCLUSÕES GERAIS.....	119
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	120
APÊNDICE	148
ANEXO.....	151

1 INTRODUÇÃO GERAL

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. L. híbrido) é uma planta semi-perene e pertence à família Poaceae, a qual inclui espécies importantes na alimentação humana (CESNIK; MIOCQUE, 2004). São citadas cinco espécies de *Saccharum*: *Saccharum officinarum* L., *Saccharum sinense* Roxb., *Saccharum barberi* Jeswiet, *Saccharum spontaneum* L. e *Saccharum robustum* Brandes; Jew (MOZAMBANI et al., 2006), sendo a primeira, por muito tempo, a mais cultivada. Porém, em função de algumas limitações como adaptação ecológica, e suscetibilidade a diferentes pragas agrícolas, sua produtividade foi sendo reduzida ao longo dos anos e começou a cair em desuso (TERAMOTO, 2003). Atualmente as plantas de cana-de-açúcar cultivadas são híbridos derivados de cruzamentos, principalmente entre as espécies *S. officinarum* e *S. spontaneum* (DILLON et al., 2007).

O cultivo da cana-de-açúcar ocorre em aproximadamente 80 países, sendo na República Dominicana, Jamaica, Ilhas Maurício e Suazilândia, a principal fonte de receita (CADET; SPAULL, 2005). No Brasil, a cultura encontra-se distribuída em uma área superior a nove milhões de ha, com produção de 658 milhões de toneladas (CONAB, 2017). Representa a segunda cultura mais importante para o agronegócio brasileiro, sendo o setor sucroalcooleiro responsável por aproximadamente 3% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional e por aproximadamente 35% do PIB da agricultura no Brasil, tendo empregado cerca de cinco milhões de pessoas (PROCANA, 2017). A cana-de-açúcar possui destacada importância econômica, pois além de ser matéria prima para a fabricação de açúcar para consumo interno e exportação, é também usada para a produção de álcool, aguardente, melado, rapadura e na alimentação animal e para a cogeração de energia elétrica. O Brasil é o maior produtor mundial de açúcar e etanol derivado da cana-de-açúcar, assim como também é o maior detentor de áreas cultivadas da cultura (CONAB, 2017).

Ademais, a cana-de-açúcar, constitui-se também como um fator de grande importância para o desenvolvimento e sustentabilidade da agricultura familiar, quer seja pela produção de açúcar mascavo, melado, rapadura ou pelo uso na alimentação animal. Entre as regiões produtoras do Rio Grande do Sul, destacam-se as Missões e o Médio Alto Uruguai, as quais, juntas contribuem com pouco mais da metade da produção gaúcha. No cenário agrícola brasileiro e regional, a cana-de-açúcar representa uma boa fonte de energia renovável. O cultivo da cana-de-açúcar, no Rio

Grande do Sul, ocupa em torno de 40 mil ha (CONAB, 2017), onde a maior parte dessas áreas é proveniente de pequenas extensões de terras, ou, ainda, de áreas marginais sem a sua devida importância; sendo, a média produtiva do Estado, considerada muito baixa.

A produtividade média brasileira poderia ser maior se o desenvolvimento da cultura não fosse prejudicado por fatores abióticos, como clima e solo, além da competição por plantas daninhas. Além disso, fatores bióticos como os fitonematoides, que contribuem para o acentuado declínio da produção (MOURA, 1997; MOURA et al., 2000; CHAVES et al., 2007). Diversos fitonematoides parasitam a cana-de-açúcar: *Meloidogyne* Goeldi, *Pratylenchus* Graham, *Radopholus* sp. Thorne, 1949, *Paratrichodorus* Colbran, 1956, *Trichodorus* sp. Cobb, 1913, *Xiphinema* sp. Cobb, 1913, *Aphelenchoides* Fisher, 1894, *Mesocriconema* Raski, 1958, *Helicotylenchus* Cobb., 1893, *Hemicycliophora* sp. Raski, 1958, *Longidorus* sp. Micoletzky, 1922 e *Rotylenchulus reniformis* Linford; Oliveira, 1940. (MOURA, 2000; ROSA et al., 2003; CADET; SPAULL, 2005; BELLÉ, 2014; BELLÉ et al., 2014; GOMES et al., 2016).

Dentre os fitonematoides que afetam a cultura, destacam-se os gêneros *Meloidogyne* e *Pratylenchus*. Dentre as espécies de *Pratylenchus* associadas à cultura, destacam-se as espécies *Pratylenchus zae* Graham, 1951 e *P. brachyurus* (Godfrey, 1929) Filipjev e Schuurmans Stekhoven, 1941, os quais se encontram distribuídos em quase todas as regiões brasileiras de cultivo (MOURA et al., 2000; CHAVES et al., 2002; SEVERIANO et al., 2010; BELLE et al., 2014). Já para o nematoide-das-galhas, *Meloidogyne javanica* (Treb) Chitwood 1949 e *M. incognita* (Kofoide & White) Chitwood 1949 são consideradas as espécies mais danosas, constituindo-se como importantes fitoparasitas da cultura da cana-de-açúcar, nos estados produtores do Brasil, causando danos ao sistema radicular das plantas infectadas (DINARDO-MIRANDA, 2008).

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* são vermes endoparasitas sedentários muito especializados, cujo ciclo de vida inicia com a penetração do juvenil de segundo estágio (J2) no interior das raízes. Uma vez que ocorre a penetração, o mesmo induz a formação de engrossamentos anormais nas raízes das plantas, provocados pelo aumento das células no entorno de seu sítio de alimentação (hipertrofia) com a posterior multiplicação exagerada das células formando os tumores (galhas) à volta do tecido parasitado, onde, na cana-de-açúcar, se apresentam pequenas e

localizadas na região da coifa. O ciclo de vida de *Meloidogyne* spp. é rápido e pode ser completado em 20-25 dias, dependendo das condições do solo (umidade e temperatura). Após 3 a 4 semanas de infecção, as fêmeas iniciam a postura de ovos no córtex da raiz. As fêmeas adultas de *Meloidogyne* se mantêm no interior das raízes e ali fazem a postura dos ovos, sendo isso muito comum nas plantas da família Poaceae (ASMUS et al., 2000; AGRIOS, 2005; HUNT; HANDOO, 2012). Nessas circunstâncias, o nematoide completa várias gerações em um único ciclo da cultura o que pode contribuir para o definhamento das plantas parasitadas (AGRIOS, 2005; FERRAZ; MONTEIRO, 2011; BERNARD; POE, 2017). Plantas de cana-de-açúcar seriamente afetadas por *Meloidogyne* spp., apresentam retardamento do crescimento e redução do número de perfilhos. As folhas tornam-se, muitas vezes, murchas e amareladas em consequência da dificuldade da planta em absorver água e nutrientes através do sistema radicular (ASSUNÇÃO et al., 2010).

A ocorrência de fitonematoides em plantações de cana-de-açúcar nos estados de São Paulo, Pernambuco e Paraná figura entre as mais prejudicadas na cultura (NOVARETTI et al., 1984; SEVERINO et al., 2010). Dentre as espécies de *Meloidogyne* que comprometem a produção de cana-de-açúcar, no Brasil, *M. incognita* e *M. javanica* são as mais comuns, sendo essas constatadas em praticamente todas as regiões produtoras. Outras espécies do nematoides-das-galhas, como *M. arenaria* (Neal) Chitwood 1949, *M. hispanica* Hirschmann, 1986, *M. kikuyensis* Grisse, 1961 e *M. thamesi* Chitwood; Specht; Havis, 1952, já foram descritas na cultura, sendo as duas primeiras relatadas no Brasil e as demais não (CADET; SPAULL, 2005; DINARDO-MIRANDA, 2005). Recentemente, *M. paranaensis* foi constatado em canaviais do noroeste paranaense (SEVERINO et al., 2008), e, *M. ethiopica* Whitehead 1968, *M. luci* Carneiro et al., 2014 e *M. hapla* Chitwood 1949 na mesma cultura, no Rio Grande do Sul (BELLÉ, 2014); porém, ainda não se dispõe de informações sobre o impacto dessas espécies na cultura em condições de campo.

Novaretti et al. (1998), trabalhando em áreas de produção comercial de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo, detectaram populações elevadas de *M. incognita* e *M. javanica*. No noroeste do Paraná, *M. javanica* é a espécie predominante, com incidência de 46% nas áreas amostradas (SEVERINO et al., 2008); no Rio Grande do Sul o nematoide-das-galhas está presente em mais de 60% das áreas produtoras de cana-de-açúcar do norte e noroeste do estado (BELLÉ, 2014), cuja espécie

predominante nessa região é *M. javanica*. Dinardo-Miranda et al. (2003) apontaram *M. javanica* como a espécie mais comum na região canavieira de Piracicaba, representando cerca de 60 % da população de nematoides presentes na área.

A fim de reduzir os prejuízos causados por esses parasitos, algumas medidas de controle podem ser adotadas e, para que possam ser corretamente recomendadas, é necessário um diagnóstico seguro da presença de nematoides na área (CARNEIRO et al., 2000; MACEDO et al., 2009; DINARDO-MIRANDA, 2011). De acordo com Severino et al. (2008), o controle de nematoides é uma prática bastante complexa. Inicialmente, medidas preventivas devem ser tomadas, evitando a entrada destes organismos em áreas onde ainda não estejam presentes. Uma vez introduzidos ou presentes em uma determinada área, devem-se adotar medidas como a utilização de variedades resistentes, rotação de cultura, controle químico, revolvimento do solo nas épocas mais quentes, incorporação de matéria orgânica no solo (BARROS, 2000) na tentativa de reduzir ou minimizar danos causados por fitonematoides.

Entre as medidas de controle que podem ser adotadas em cana-de-açúcar visando a redução das populações de nematoides, o uso de variedades resistentes ou tolerantes é, sem dúvida, a mais prática e econômica, pois estas variedades podem ser adquiridas pelo mesmo preço de outras variedades (LORDELLO, 1981; DINARDO-MIRANDA et al., 2000). Entretanto, os fatores que conferem a cana-de-açúcar alta produtividade parecem ser antagônicos com aqueles que propiciam rusticidade, como resistência os fitonematoides (DINARDO-MIRANDA, 1994; DINARDO-MIRANDA et al., 1995; SANTOS et al., 2013). Em razão disso, são raras as variedades atualmente em cultivo que apresentam resistência a, pelo menos, uma das espécies de nematoides de importância econômica (*M. javanica* e *M. incognita*). Além disso, quando se detecta resistência em determinada variedade, a mesma normalmente restringe-se a uma das espécies citadas. Como em campo é frequente a ocorrência de duas ou mais espécies citadas (SEVERINO et al., 2008; BELLÉ, 2014; NORONHA et al., 2017), o emprego de uma variedade resistente somente a uma espécie de nematoide torna-se inviável (GARCIA et al., 1997; DINARDO-MIRANDA, 2006; MACEDO et al., 2009). O único genótipo resistente a *Meloidogyne* spp., descrito na literatura, é SP70-1143, reconhecida como resistente a *M. javanica* (NOVARETTI et al., 1981), no entanto, tal genótipo comportou-se como suscetível a *M. incognita* em trabalho realizado por Dinardo-Miranda et al. (1995).

As constantes mudanças no conjunto de variedades de cana-de-açúcar cultivadas no Brasil refletem contínua necessidade de novas variedades, objetivando melhores produtividades agrícolas (REGIS; MOURA, 1989; SCARAMUCCI, 2006; MACEDO et al., 2009). Entretanto, até o momento, são poucas aquelas cujas reações aos nematoides estão caracterizadas ou que não apresentem restrições agroindustriais. Por outro lado, o uso continuado de variedades tradicionais, vem favorecendo maiores incidências e severidades a problemas fitossanitários, especialmente nematoses o que contribuem sensivelmente para a baixa produtividade agrícola no país (MOURA; ALMEIDA, 1981; DINARDO-MIRANDA et al., 1995; DINARDO-MIRANDA, 2001; BARBOSA et al., 2009).

Considerando-se a importância econômica da cana-de-açúcar para o Rio Grande do Sul e o Brasil; e a necessidade de estudos sobre a ocorrência, danos e resistência genética para o manejo de *Meloidogyne* spp., o presente estudo foi dividido em três capítulos. No primeiro, objetivou-se caracterizar bioquímica, fisiológica e molecularmente as espécies do nematoide-das-galhas em cana-de-açúcar presentes na cultura em áreas produtoras das regiões central, litoral, serrana e sul do Estado do Rio Grande do Sul. No segundo, teve-se por objetivo, estudar a agressividade de diferentes populações de *M. javanica* e *M. incognita* provenientes de diferentes regiões do Rio Grande do Sul em diferentes genótipos de cana-de-açúcar. E, no terceiro, avaliar a reação de genótipos de cana-de-açúcar a *M. javanica* e *M. incognita*; assim como também, estudar o impacto de *M. javanica*, *M. incognita*, *M. arenaria* no desenvolvimento da cana-de-açúcar, em casa de vegetação, e, avaliar a patogenicidade de espécies presentes e menos frequentes (*M. ethiopica*, *M. luci*, *M. hapla*, *M. arenaria*, *M. morocciensis* e *M. enterolobii*) na cultura.

2 CAPÍTULO I - OCORRÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO DO NEMATOIDE-DAS-GALHAS (*Meloidogyne* spp.) EM CANA-DE-AÇÚCAR NO RIO GRANDE DO SUL

2.1 Introdução

No Rio Grande do Sul (RS), a cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. L híbrido) apresenta grande importância socioeconômica uma vez que a cultura está fortemente relacionada às atividades desenvolvidas na agricultura familiar. A produção da cana-de-açúcar no RS contribui em aproximadamente R\$ 70 milhões e está entre as sete principais culturas de maior valor econômico depois da soja, do arroz, do milho e do trigo (IBGE, 2016). Além disso, a produção de cana-de-açúcar está associada à criação de gado, ao processamento artesanal de produtos como melado, rapadura, cachaça, açúcar mascavo e à expansão da produção de etanol no Estado.

A produtividade média brasileira poderia ser maior se o desenvolvimento da cultura não fosse prejudicado por fatores abióticos como clima, solo, além da competição com plantas daninhas, dentre outros fatores bióticos de origens diversas. Entre estes, pode-se citar a ocorrência de fitonematoides, que contribui para o declínio da produtividade da cultura (MOURA, 1997; MOURA et al., 2000). Diferentes espécies de nematoides fitoparasitas representam sérios problemas ao cultivo da cana-de-açúcar em praticamente todas as regiões do mundo onde essa espécie é cultivada. Conforme Cadet e Spaul (2005), mais de 300 espécies de fitonematoides, distribuídas em 48 gêneros, tem sido associadas às raízes da cana-de-açúcar, cuja redução da produtividade pode chegar a 40% dependendo da espécie (DINARDO-MIRANDA, 2005), inviabilizando, dessa forma, o seu cultivo em áreas infestadas por tais patógenos (NOVARETTI et al., 1978). No entanto, as perdas variam em função dos fitonematoides envolvidos, seus níveis populacionais e da suscetibilidade da variedade (NOVARETTI et al., 1997; NOVARETTI et al., 1978; DINARDO-MIRANDA, 2008; CHAVES et al. 2009).

No Brasil, os nematoides-das-galhas (*Meloidogyne* sp.) e o das lesões (*Pratylenchus* sp.) são os mais frequentes e associados a redução da produção da cana-de-açúcar (GOMES et al., 2016). Em levantamentos nematológicos, verificou-se que entre as espécies do nematoides-das-galhas, *Meloidogyne incognita* (Kofoid;

White) Chitwood 1949, *M. javanica* (Treub) Chitwood 1949 e *M. arenaria* (Neal) Chitwood 1949, estão associadas as principais regiões brasileiras produtoras de cana-de-açúcar, sendo as duas primeiras, as mais frequentes (DINARDO-MIRANDA, 2008). Estudos conduzido nos estados do Rio Grande do Sul e do Paraná, *M. javanica* foi a espécie predominante nas regiões amostradas (SEVERINO et al., 2008; BELLÉ, 2014). Em levantamento conduzido por Bellé (2014), foi registrada a ocorrência de *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. ethiopica* Whitehead 1968, *M. luci* Carneiro et al., 2014 e *M. hapla* Chitwood 1949 no Rio Grande do Sul. Outras espécies como *M. hispanica* Hirschmann, 1986 e *M. enterolobii* Yang e Eisenback, 1983 também já foram relatadas na cultura na região nordeste do Brasil (CHAVES et al., 2007; MOURA et al., 2009). Convém ressaltar que, apesar da cana-de-açúcar ser um dos principais cultivos do Brasil, estudos de distribuição do nematoide-das-galhas são escassos nas regiões produtoras do país.

Em áreas de produção de cana-de-açúcar infestadas pelos nematoides-das-galhas, o primeiro passo para realização de um manejo adequado é a identificação da(s) espécie(s) que ocorrem no local. As espécies de *Meloidogyne* são altamente variáveis nos níveis genéticos, morfológicos e biológicos e a identificação por meio de métodos morfológicos clássicos é complexa e difícil. Além disso, em alguns casos, pode ocorrer à identificações errôneas quando se utilizam os padrões perineais de fêmeas como único critério de identificação (CARNEIRO; COFCEWICZ, 2008). Como alternativas práticas, a eletroforese de isoenzimas (esterases) e as técnicas baseadas em PCR (*Polymerase Chain Reaction*) provaram ser confiáveis e rápidas para monitorar e caracterizar as espécies de *Meloidogyne*, tornando-se ferramentas confiáveis de identificação das mesmas (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1985, ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU 1990; CARNEIRO et al., 1996, CARNEIRO et al., 2000; BLOK; POWERS, 2009; CARNEIRO et al., 2016; STARE et al., 2017; CUNHA et al., 2018)

O uso de métodos bioquímicos através de padrões eletroforéticos por isoenzimas tem demonstrado que as principais espécies do nematoide-das-galhas podem ser identificadas com o uso de proteínas, com precisão, caracterizando essa técnica como uma ferramenta excelente e rápida (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1985; ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990; CARNEIRO et al., 2000; CARNEIRO; ALMEIDA, 2001; CARNEIRO et al., 2016; CUNHA et al., 2018).

Outra técnica de identificação de espécies de *Meloidogyne* incluem o uso de marcadores SCAR (*Sequence Characterized Amplified Regions*) obtidos a partir de fragmentos de DNA amplificados ao acaso (RAPD) e posterior conversão em *primers* espécie-específicos (ZIJLSTRA, 2000; ZIJLSTRA et al., 2000; RANDIG et al., 2002; TIGANO et al., 2010; CUNHA et al., 2018). Métodos baseados na técnica de PCR têm demonstrado que são rápidos, independentemente do estágio do ciclo de vida do nematoide e são muito mais confiáveis (ZIJLSTRA, 2000; CARNEIRO et al., 2016; CUNHA et al., 2018). Marcadores SCAR já foram desenvolvidos para separar *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*, presentes principalmente em regiões tropicais e subtropicais (ZIJLSTRA, 2000; MENG et al., 2004), *M. hapla* (ZIJLSTRA et al., 2000), e espécies quarentenárias como *M. chitwoodi* Golden et al., 1980 e *M. fallax* Karssen 1996 (KARSSSEN, 1996). Foram também desenvolvidos para as três principais espécies de *Meloidogyne* parasitas de cafeeiro no Brasil: *M. incognita*, *M. exigua* Goeldi 1887 e *M. paranaensis* Carneiro et al. 1996 (RANDIG et al., 2002) e, *M. arabicida* López e Salazar 1989 e *M. izardoensis* Carneiro et al., 2005 (CORREA et al., 2013), espécies ocorrentes em café. Foram também desenvolvidos marcadores SCAR para *M. enterolobii*, o nematoide-das-galhas da goiabeira (TIGANO et al., 2010) e, mais recentemente, para *M. ethiopica* (CORREA et al., 2014). No entanto, ainda não se dispõe de marcadores SCAR para todas as espécies, podendo ocorrer problemas de sobreposição, havendo a necessidade de emprego de outro método de identificação conjuntamente (CARNEIRO et al., 2016).

Para o estudo de variabilidade genética intraespecífica de populações de *Meloidogyne* spp., o uso de marcadores moleculares é bem mais eficiente e pode permitir revelar polimorfismo entre organismos relativamente próximos (COFCEWICZ, 2003; MUNIZ et al., 2008; TIGANO et al., 2010; ROBERTS et al., 2016; SEESOO et al., 2017). A técnica de RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) pode revelar considerável polimorfismo, mesmo entre organismos estreitamente relacionados, sendo extremamente interessante para estudos de variabilidade intraespecífica (RANDING et al., 2002; CARNEIRO et al., 2004a; CUNHA et al., 2018).

Considerando-se a importância do nematoide-das-galhas na cultura da cana-de-açúcar e a falta de estudos sobre a variabilidade do gênero, nas regiões canavieiras brasileiras, torna-se necessário a realização de estudos que objetivem detectar a ocorrência, e a diversidade de espécies do nematoide-das-galhas. Dessa forma, foi objetivo do presente trabalho: caracterizar bioquímica, fisiológica e

molecularmente as espécies do nematoide-das-galhas em cana-de-açúcar presentes na cultura em diferentes áreas produtoras do estado do Rio Grande do Sul.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Ocorrência e distribuição do nematoide-das-galhas (*Meloidogyne* spp.) em regiões produtoras de cana-de-açúcar do Rio Grande do Sul

Quarenta e uma amostras de solo e de raízes de cana-de-açúcar foram coletadas em lavoura distribuídas nas regiões da Serra Gaúcha, Litoral Norte, Central e Sul do Rio Grande do Sul, percorrendo-se as áreas em zigue-zague, das quais foram obtidas amostras compostas de 10 subamostras/ha, sendo o número total dependente da dimensão de cada local (NOVARETTI, 2011). Procederam-se as coletas a uma profundidade de 0 a 25 cm da superfície do solo, obtendo-se, ao final, uma amostra composta de aproximadamente 100 g de raízes e 1 kg de solo. A seguir, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, etiquetados e identificados quanto a variedade e origem do material e levadas ao Laboratório de Fitopatologia/Nematologia da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, para avaliação da presença, quantificação das populações e caracterização da(s) espécie(s) de *Meloidogyne*.

No laboratório, parte das raízes (10 g) de cada amostra foram lavadas e trituradas em liquidificador conforme metodologia de Hussey e Barker (1973) modificada por Bonetti e Ferraz (1981), sendo a suspensão obtida observada sob microscópio estereoscópico, para avaliação da presença e quantificação do número de juvenis de segundo estágio (J2) do gênero *Meloidogyne* (MAI; MULLIN, 1996). Uma alíquota de 100 cm³ de solo, da mesma amostra, foi processada para quantificação do número de J2 do nematoide-das-galhas, através do método de peneiramento e flotação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964).

Para identificação das espécies do nematoide-das-galhas nas amostras, fêmeas adultas foram retiradas das raízes infectadas, quando presentes, e a seguir, caracterizadas bioquimicamente através da técnica de eletroforese, utilizando-se a enzima esterase (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001). Uma vez identificadas, as respectivas massas de ovos de cada espécie de *Meloidogyne* spp. foram inoculadas em plantas de tomate cv. 'Rutgers' e mantidas em vasos com solo autoclavado em

casa de vegetação a 25 ± 3 °C, para obtenção de populações puras e condução de estudos posteriores.

2.2.1.1 Caracterização bioquímica das espécies de *Meloidogyne*

A caracterização das espécies do nematoide-das-galhas foi realizada por eletroforese utilizando-se a isoenzima esterase (Est) em gel de poliacrilamida 7%, de acordo com Carneiro e Almeida (2001). Para isso, foram utilizadas trinta fêmeas de coloração branco-leitosa de *Meloidogyne* spp. na fase de postura de ovos, sendo extraídas individualmente das raízes de cada amostra com o auxílio de um estilete, sob microscópio estereoscópico; e, a seguir, transferidas para tubos de micro hematócrito, contendo 3 μ L do tampão de extração (Sacarose/Triton X-100). Os tubos foram mantidos em recipiente com gelo durante todo o processo de extração das amostras. As fêmeas foram maceradas com um bastão de aço de extremidade arredondada, sendo o extrato obtido de cada subamostra, aplicado com o auxílio de uma seringa (Hamilton) sobre papel Whatman 3 mm (1,5 x 4,0 mm) em placa de porcelana, e, a seguir, transferido para a respectiva cavidade do gel de poliacrilamida. Extratos proteicos de fêmeas de *M. javanica* foram incluídos em cada gel como fenótipo padrão para a caracterização da esterase. Gotas de azul bromofenol (0,1%) foram colocadas nas extremidades do gel, para acompanhamento da migração, que seguiu a voltagem de 120 V, em temperatura média de 4 °C por 2 horas.

Os padrões de bandas no gel de poliacrilamida foram obtidos com a imersão do gel em soluções reveladoras específicas para a isoenzima esterase (α -naftilacetato, Fast Blue RR Salt e tampão fosfato de sódio) preparadas no momento do uso. Após a incubação do gel no escuro, a 37 °C, por aproximadamente 30-40 minutos, os mesmos foram lavados em água corrente e fixados em solução composta de água destilada, álcool metílico e ácido acético na proporção (5:5:1) (v/v) por 30 minutos. Em seguida, cada gel foi seco entre duas folhas de papel celofane sobre placa de vidro. Os fenótipos de esterase identificados foram designados pelas letras sugestiva do nome da espécie, acompanhados de um número que indica o número de bandas obtido (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1985; ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990; CARNEIRO; ALMEIDA, 2001).

2.2.2 Caracterização fisiológica das populações de *Meloidogyne incognita*

Oito populações de *M. incognita* provenientes de diferentes locais do Rio Grande do Sul (Mi17, Mi18, Mi19, Mi20, Mi 21, Mi22, Mi23 e Mi24 - Tabela 1) foram caracterizadas quanto à raça fisiológica pelo teste de hospedeiros diferenciadores da Universidade Estadual da Carolina do Norte (HARTMAN; SASSER, 1985). Para tanto, mudas de tomate (*Lycopersicon esculentum* 'Rutgers'), fumo (*Nicotiana tabacum* 'NC 95') e algodão (*Gossypium hirsutum* 'Deltapine 61'), produzidas em solo esterilizado, foram transplantadas no estádio de dois a três pares de folhas definitivas para vasos de 2 L, contendo solo esterilizado, em casa de vegetação

Após uma semana do transplante, procedeu-se a inoculação de cada planta com 5.000 ovos + J2 de cada população de *M. incognita*, individualmente, utilizando-se seis repetições. A avaliação das plantas diferenciadoras foi realizada 60 dias após a inoculação, quantificando-se o número de galhas por sistema radicular. Com base no número médio de galhas/população, foram atribuídas notas de 0 a 5, sendo a caracterização das raças realizada com base na escala proposta por Taylor e Sasser (1978).

2.2.3 Caracterização molecular das populações de *Meloidogyne* spp. proveniente de áreas com cana-de-açúcar do Rio Grande do Sul

Para o estudo de variabilidade das populações de *Meloidogyne*, foram utilizadas populações do nematoides-das-galhas obtidas neste presente trabalho e aquelas obtidas no estudo de Bellé (2014) (Tabela 1).

2.2.3.1 Extração de ovos de *Meloidogyne* spp.

Para realização desse estudo, foram utilizadas 16 populações puras de *M. javanica* (6 Est. J3, 8 Est. J2 e 2 Est. J2a), 8 de *M. incognita* (6 Est. I2 e 2 Est. I1), 6 de *M. arenaria* (4 Est. A2 e 2 Est. A1) uma de *M. morrocienis* Est. A3, uma de *M. ethiopica* Est. E3, uma de *M. luci* Est. L3, uma de *M. enterolobii* Est. M2 e uma de *Meloidogyne* sp. Est. SC1 provenientes da cultura da cana-de-açúcar (Tabela 1).

Tabela 1 - Código das populações utilizadas nas análises RAPD, origem geográfica, espécie de *Meloidogyne* e fenótipos de esterase presentes em amostras coletadas em áreas de cana-de-açúcar do estado do Rio Grande do Sul.

Código dos Isolado	Nº amostra	Procedência	Espécie	Fenótipo Esterase
MJ 1*	134P	Pelotas	<i>M. javanica</i>	J3
MJ 2**	SAP08	Santo Antônio da Patrulha	<i>M. javanica</i>	J3
MJ 3*	47P	Planalto	<i>M. javanica</i>	J3
MJ 4*	109SA	Santo Ângelo	<i>M. javanica</i>	J3
MJ 5**	CX24	Caxias do Sul	<i>M. javanica</i>	J3
MJ 6*	55V	Vista Alegre	<i>M. javanica</i>	J3
MJ 7*	104PL	Porto Lucena	<i>M. javanica</i>	J2
MJ 8*	91PX	Porto Xavier	<i>M. javanica</i>	J2
MJ 9*	15I	Íraí	<i>M. javanica</i>	J2
MJ 10*	10FW	Frederico Westphalen	<i>M. javanica</i>	J2
MJ 11*	98RQ	Roque Gonzales	<i>M. javanica</i>	J2
MJ 12*	111SA	Santo Ângelo	<i>M. javanica</i>	J2
MJ 13*	123A	Aratiba	<i>M. javanica</i>	J2
MJ 14*	129C	Crissiumal	<i>M. javanica</i>	J2
MJ 15*	117SLG	São Luiz Gonzaga	<i>M. javanica</i>	J2a
MJ 16*	32PV	Pinheiro do Vale	<i>M. javanica</i>	J2a
MI 17**	SAP01	Santo Antônio da Patrulha	<i>M. incognita</i>	I2
MI 18**	11M	Maquiné	<i>M. incognita</i>	I2
MI 19**	17O	Osorio	<i>M. incognita</i>	I2
MI 20*	9FW	Frederico Westphalen	<i>M. incognita</i>	I2
MI 21*	21VD	Vicente Dutra	<i>M. incognita</i>	I2
MI 22*	119SLG	São Luiz Gonzaga	<i>M. incognita</i>	I2
MI 23*	83J	Jaboticaba	<i>M. incognita</i>	I1
MI 24*	121A	Aratiba	<i>M. incognita</i>	I1
MA 25*	63P	Palmitinho	<i>M. arenaria</i>	A2
MA 26*	29C	Caiçara	<i>M. arenaria</i>	A2
MA 27**	VI04	Viamão	<i>M. arenaria</i>	A2
MA 28**	CX21	Caxias do Sul	<i>M. arenaria</i>	A2
MA 29*	11FW	Frederico Westphalen	<i>M. arenaria</i>	A1
MA 30*	110SA	Santo Ângelo	<i>M. arenaria</i>	A1
MM 31**	A3V	Viamão	<i>M. morocciensis</i>	A3
ME 32*	25C	Caiçara	<i>M. ethiopica</i>	E3
ML 33**	01SAP	Caxias do Sul	<i>M. luci</i>	L3
ME n 34**	M12	Maquiné	<i>M. enterolobii</i>	M2
Msp 35*	35PV	Pinheiro do Vale	<i>Meloidogyne</i> sp.	SC1

*Populações provenientes do levantamento realizado por Bellé (2014) (Anexo 1). ** Populações provenientes do presente estudo.

Raízes de tomateiros infectados com cada uma das populações de *Meloidogyne* acima citadas, após três meses da inoculação, em casa de vegetação,

foram lavadas, cortadas e trituradas em liquidificador com 500 mL da solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 1,25% por 40 segundos. Em seguida, o triturado foi passado por um conjunto de peneiras sobrepostas de 50, 100 e 635 mesh, cujos resíduos da peneira de 635 mesh foram lavados com água corrente e coletados em um béquer.

Posteriormente, a suspensão obtida foi distribuída em tubos Falcon de 50 mL com adição de caulim (aproximadamente 2 g) e centrifugada a 2500 rpm por 5 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e os tubos foram completados com solução de sacarose (4 °C) a 45%. Logo, a suspensão foi homogeneizada e centrifugada a 2500 rpm por 2 minutos, sendo o sobrenadante imediatamente vertido sobre peneira de 635 mesh e lavado com água destilada para retirar os resíduos de sacarose. Em sequência, os ovos foram pipetados e transferidos para microtubos de 1,5 mL para centrifugação a 10.000 rpm por 2 minutos, sendo o sobrenadante eliminado e os ovos armazenados a -80 °C para, posteriormente, serem submetidos à extração de DNA.

2.2.3.2 Extração, purificação e precipitação do DNA

Para cada população do nematoide-das-galhas (Tabelas 1 e 4), o DNA genômico foi extraído e purificado de alíquota de 50 µL de ovos, seguindo-se o procedimento proposto por Doyle e Doyle (1990) modificado.

Os ovos foram macerados em microtubo de 1,5 mL com 400 µL de solução de extração (Tris-HCl 100 mM pH 8,0; EDTA 20 mM pH 8,0; NaCl 1,4 M; CTAB 2%; PVP 40000 1%; 2-Mercaptoetanol 0,1% e Proteinase K 0,01%) previamente aquecido à 65 °C por 3 minutos e agitado em vórtex por 10 segundos. A seguir, o macerado, de cada população do nematoide-das-galhas, foi incubado em banho-maria a 65 °C por 45 minutos, sendo o mesmo agitado a cada 15 minutos. Em seguida, ao tubo de cada amostra, foram acrescentados 400 µL de clorofórmio e agitou-se a mistura por suaves inversões, durante 5 minutos. Imediatamente, o conteúdo de cada amostra foi centrifugado a 14.000 rpm, 20 °C, por 5 minutos, para retirada de aproximadamente 400 µL da fase aquosa e transferência para um novo microtubo de 1,5 mL. Ao microtubo da amostra, foi adicionado 200 µL de isopropanol (2-propanol) gelado (4 °C), sendo a mistura homogeneizada por suaves inversões por 1 minuto e incubado a

-20 °C por 30 minutos. A seguir, a solução foi centrifugada a 14.000 rpm, 20 °C, por 5 minutos, onde o sobrenadante foi descartado e manteve-se somente o pellet no fundo do microtubo. Para precipitação do DNA, foi adicionado ao microtubo, 200 µL de etanol 70% gelado (4 °C), seguido de centrifugação em 14.000 rpm a 4 °C por 5 minutos, descartando-se o sobrenadante e mantendo-se o pellet formado. O precipitado foi seco à temperatura ambiente, recuperado em volume de 50 µL de TE [1 mM de Tris e 0,1 mM EDTA] + RNase e incubado a 37 °C por 30 minutos. Posteriormente, o DNA foi quantificado em NanoDrop 2000 e armazenado a -20 °C até a sua utilização.

2.2.3.3 Identificação de espécies por marcadores moleculares tipo SCAR

Para confirmação da identificação das populações de *Meloidogyne* spp. previamente caracterizadas pelos fenótipos de esterase (Tabela 1), foram utilizados marcadores SCAR (*Sequence Characterized Amplified Regions*) espécie-específicos, desenvolvidos por Zijlstra (2000), Zijlstra et al. (2000), Randig et al. (2002), Tigano et al. (2010) e Correa et al. (2014), conforme tabela 2.

Tabela 2 - *Primers* utilizados nas reações de PCR-SCAR para a identificação de espécies de *Meloidogyne*.

Espécies	Marcadores	Sequência (5'→ 3')	Fragmento (pb)	Referência
<i>M. javanica</i>	Fjav	GGTGCGCGATTGAACTGAGC	670	Zijlstra et al. (2000)
	Rjav	CAGGCCCTTCAGTGGAACCTATAC		
<i>M. incognita</i>	inc-K14-F	GGGATGTGTAAATGCTCCTG	399	Randig et al. (2002)
	inc-K14-R	CCCCTACACCCTCAACTTC		
<i>M. arenaria</i>	Far	TCGGCGATAGAGGTTAAATGAC	420	Zijlstra et al. (2000)
	Rar	TCGGCGATAGACACTACAAC		
<i>M. ethiopica</i>	MethF	ATGCAGCCGCAGGGAACGTAGTT	350	Correa et al., (2014)*
	MethR	TGTTGTTTCATGTGCTTCGGCATC		
<i>M. enterolobii</i>	MK7-F	GATCAGAGGCGGGCGCATTGCGA	520	Tigano et al., (2010)
	MK7-R	CGAACTCGCTCGAACTCGAC		

* Temperatura de anelamento (Tm) foi modificada para 60 °C

As reações de amplificação do PCR - SCAR foram realizadas no volume final de 25 µL contendo 2 µL de DNA total [3ng/µL]; 1 µL de cada primer [10µM] (Tabela 2); 4,0 µL de dNTP [1,25 mM]; 5 µL de Tampão 5X; 0,75 µL MgCl₂ [25mM] (Invitrogen);

0,20 de Taq DNA polimerase [5 U/ μ L] (Invitrogen) e 12,5 mL de H₂O. As amplificações foram realizadas em termociclador PTC-100 (Bio-Rad) programado de acordo com as condições descritas para cada par de *primers* (Tabela 2). Para *M. morocciensis*, o marcador usado foi o mesmo de *M. arenaria* (ZIJLSTRA et al., 2000) pois não há marcador específico desenvolvido para essa espécie. No entanto, para as espécies próximas a *M. arenaria*, foram realizadas reações de PCR com marcador específico para *M. arenaria* (ZIJLSTRA et al., 2000), no sentido de testar a especificidade desse marcador.

Para as espécies que não possuem *primers* SCAR descritos na literatura, foi feito um SCAR-PCR *multiplex* de acordo com as condições relatadas para *M. javanica* (ZIJLSTRA, 2000), exceto para a temperatura de anelamento, a qual foi estabelecida a 61 °C e 35 ciclos de amplificação (RANDIG et al., 2002; RANDIG et al., 2004).

2.2.3.4 Análise molecular com marcador RAPD

Foram utilizadas 35 populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de cana-de-açúcar de lavouras do estado do Rio Grande do Sul (Tabela 1).

As reações de PCR-RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) foram realizadas em um volume final de 25 μ L contendo 5 μ L de tampão 5X, 1,7 μ L de MgCl₂, 0,45 μ L de dNTP [1,25 mM], 0,85 μ L do primer [10 μ M] (Operon Technologies), 0,2 μ L da enzima Taq DNA polimerase (5 U/ μ L), 6 μ L de DNA genômico total (3 ng/ μ L) e 10,8 μ L de água Milli-Q. As amplificações foram realizadas em termociclador PTC-100 (Bio-Rad) com as seguintes condições: 5 minutos a 94 °C, 40 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 45 segundos a 36 °C, 2 minutos a 70 °C e uma extensão final de 10 minutos a 70 °C (RANDIG et al., 2002). Cada reação foi feita em duplicata para maior segurança dos ensaios. Foram utilizados, na análise, um total de 45 *primers* (Tabela 3). Os fragmentos amplificados foram separados por meio de eletroforese em gel de agarose a 1,5%, em tampão TBE 0,5% (90 mM Tris-HCl, 89 mM de ácido bórico, 2 mM de EDTA), à uma corrente constante de 100 mA por cerca de 3 horas e visualizados sob luz UV.

2.2.3.5 Análise filogenética

Para a análise filogenética, os fragmentos revelados foram registrados como presentes ou ausentes. Para cada isolado, duas reações de PCR independentes foram corridas, sendo que apenas os fragmentos presentes em ambas repetições foram considerados. Os fragmentos de DNA considerados presentes (1) ou ausentes (0) foram convertidos em uma matriz binária. Foi realizada uma análise de distância (Neighbour-Joining) com 1000 repetições de *bootstrap* para testar a significância do dendrograma obtido (FELSENSTEIN, 1985). Foi utilizado o método filogenético UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) no programa PAUP* v 4.0 (SWOFFORD, 2002).

Tabela 3 - *Primers* RAPD e suas respectivas sequências 5'-3' utilizados em reações de PCR para o estudo da variabilidade genética de populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de cana-de-açúcar do Rio Grande do Sul.

Nº	Primer	Sequência 5' → 3'	Nº	Primer	Sequência 5' → 3'
1	OP A-07	GAA ACG GGT G	24	OP D-13	GGG GTG ACG A
2	OP A-12	TCG GCG ATA G	25	OP E-07	AGA TGC AGC C
3	OP A-13	CAG CAC CCA C	26	OP E-18	GGA CTG CAG A
4	OP A-14	TCT GTG CTG G	27	OP G-02	GGC ACT GAG G
5	OP A-01	CAG GCC CTT C	28	OP G-03	GAG CCC TCC A
6	OP A-04	AAT CGG GCT G	29	OP G-06	GTG CCT AAC C
7	OP A-10	GTG ATC GCA G	30	OP G-13	CTC TCC GCC A
8	OP A-18	AGG TGA CCG T	31	OP H-04	GGA AGT CGC C
9	OP AB-02	GGA AAC CCC T	32	OP J-20	AAG CGG CCT C
10	OP AB-03	TGG CGC ACA C	33	OP K-01	CAT TCG AGC C
11	OP AB-04	GGC ACG CGT T	34	OP L-19	GAG TGG TGA C
12	OP AQ-13	GAG TCG GCT G	35	OP M-10	TCT GGC GCA C
13	OP AS-08	GGC TGC CAG T	36	OP N-09	TGC CGG CTT G
14	OP B-05	TGC GCC CTT C	37	OP N-20	GGT GCT CCG T
15	OP B-07	GGT GAC GCA G	38	OP P-01	GTA GCA CTC C
16	OP B-09	TGG GGG ACT C	39	OP P-02	TCG GCA CGC A
17	OP B-11	GTA GAC CCG T	40	OP P-07	GTC CAT GCC A
18	OP B-17	TCG CAT CCA G	41	OP P-09	GTG GTC CGC A
19	OP B-20	GGA CCC TTA C	42	OP Q-06	GAG CGC CTT G
20	OP C-02	GTG AGG CGT C	43	OP Q-07	CCC CGA TGG T
21	OP C-07	GTC CCG ACG A	44	OP R-07	ACT GGC CTG A
22	OP C-08	TGG ACC GGT G	45	OP Y-10	CAA ACG TGG G
23	OP C-18	TGA GTG GGT G			

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Ocorrência e distribuição do nematoide-das-galhas (*Meloidogyne* spp.) em regiões produtoras de cana-de-açúcar nas regiões da Serra Gaúcha, Litoral Norte, Central e Sul do Rio Grande do Sul

Entre as 41 amostras de cana-de-açúcar coletadas nos municípios de Santo Antônio da Patrulha, Maquiné, Osório, Caxias do Sul, Viamão, Santa Maria e Pelotas, Rio Grande do Sul, verificou-se a presença do nematoide-das-galhas em 92,6% das áreas amostradas. Os níveis populacionais de *Meloidogyne* spp. nas lavouras foram variáveis independentemente da variedade, sendo observado de 750 a 19.740 J2/10 g de raízes e de 120 a 6.418 J2/100 cm³ de solo nas amostras onde o nematoide-das-galhas foi detectado (Tabela 4; Figura 1).

Foram obtidas 51 populações de *Meloidogyne* spp. provenientes das amostras de lavouras de cana-de-açúcar coletadas nos diferentes municípios amostrados no Rio Grande do Sul (Tabela 4). Entre as populações de *Meloidogyne* em estudo, foram identificadas nove fenótipos de esterase (Est) que corresponderam às espécies *Meloidogyne incognita* (Est. I2), *M. javanica* (Est. J3 e J2a), *M. arenaria* (Est. A2), *M. ethiopica* (Est. E3), *M. enterolobii* (Est. M2), *M. morocciensis* (Est. A3), *M. luci* (Est. L3) e *M. hapla* (Est. H1). *Meloidogyne incognita* foi a espécie predominante (51,3%) nos locais onde foi detectado a presença de nematoide-das-galhas (Figura 2).

Nas amostras foram detectadas 19 populações de *M. incognita* Est I2 (Rm: 1,00, 1,10), 11 de *M. javanica* Est. J3 (Rm: 1.00; 1.25; 1.40) e duas Est. J2a (Rm: 1.00; 1.40), sete de *M. arenaria* Est. A2 (Rm: 1.20, 1.30), duas de *M. ethiopica* Est. E3 (Rm: 0,90, 1,05, 1,20), três de *M. enterolobii* Est. M2 (Rm: 0.7, 0.75, 0.9, 0.95), três de *M. morocciensis* Est. A3 (Rm: 1.10, 1.20, 1.30), três de *M. luci* Est. L3 (Rm: 1.00, 1.16, 1.34) e uma de *M. hapla* Est. H1 (Rm: 1.18) (Tabela 4, Figura 2).

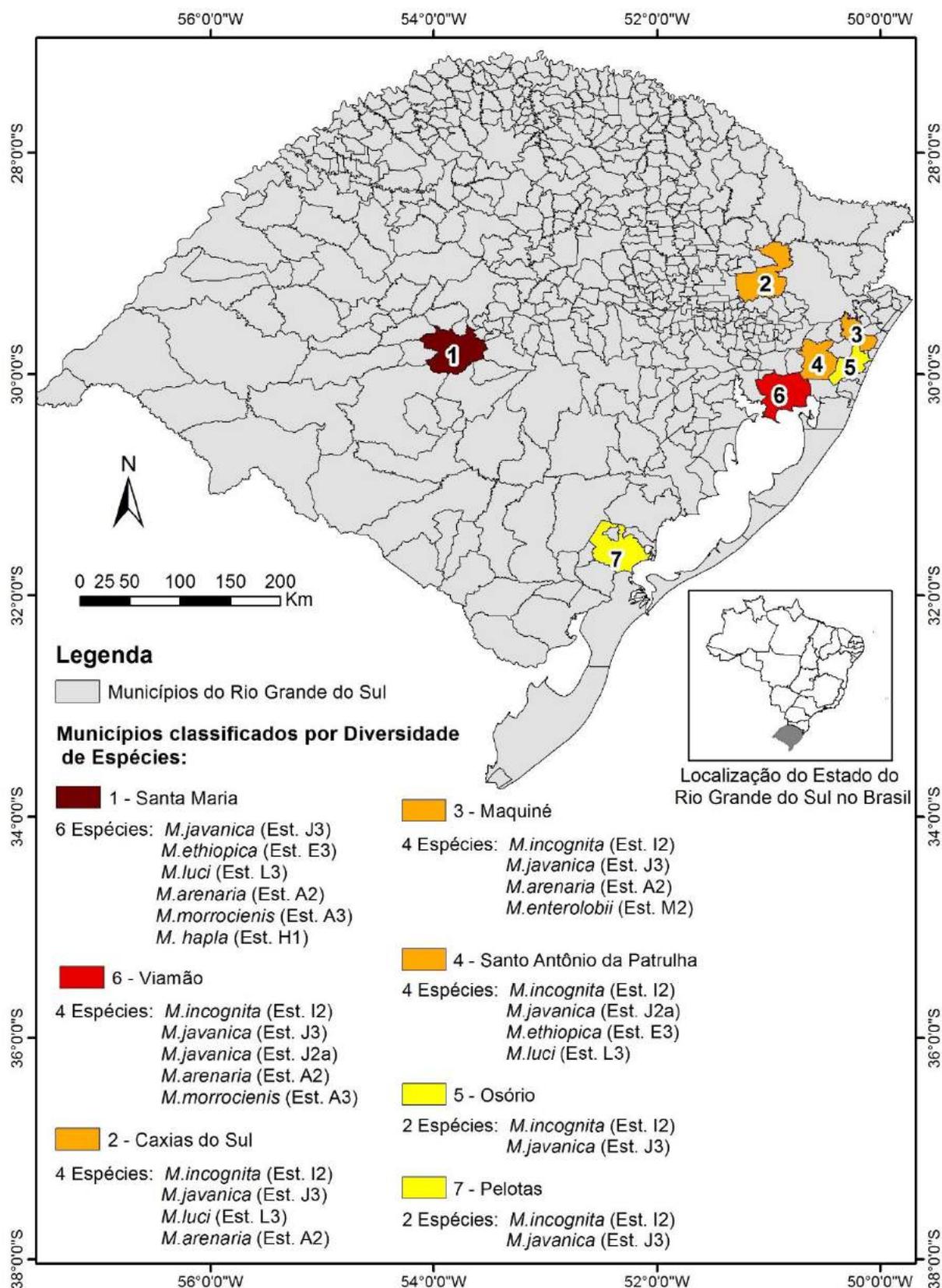


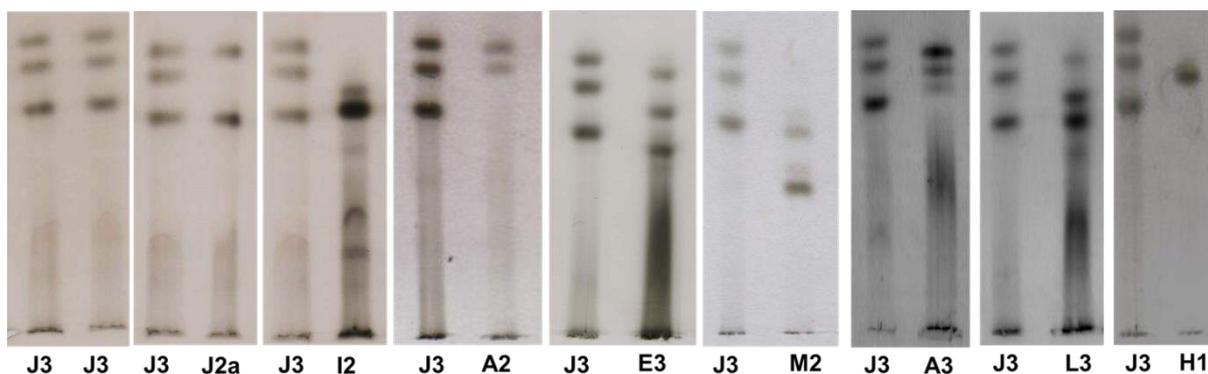
Figura 1 - Localização e distribuição espacial de *Meloidogyne* spp. por município em áreas de cultivo de cana-de-açúcar nas regiões da Serra Gaúcha, Litoral Norte, Central e Sul do Rio Grande do Sul.

Tabela 4 - Fenótipos isoenzimáticos de esterase e suas respectivas percentagens de ocorrência e níveis populacionais/amostra observados em populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de áreas de cultivo de cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul, onde foi detectada a presença do nematoide-das-galhas.

Amostra	Localidade	Variedade	N° de <i>Meloidogyne</i>		<i>Meloidogyne</i> spp./ Fenótipo de esterase	Ocorrência (%)
			Solo (100 cm ³)	Raiz (10g)		
133	Santo Antônio da Patrulha ¹	Napa Paulista	1280	3098	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	75
					<i>M. luci</i> (Est. L3)	25
134	Santo Antônio da Patrulha	Mulata	1040	4686	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	100
135	Santo Antônio da Patrulha	Napa Paulista	2686	6840	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	100
136	Santo Antônio da Patrulha	RB935581	5946	5508	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	60
					<i>M. ethiopica</i> (Est. E3)	40
137	Santo Antônio da Patrulha	Napa Paulista	640	9136	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	80
					<i>M. javanica</i> (Est. J2a)	20
139	Santo Antônio da Patrulha	Napa Paulista	2412	4916	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	100
140	Santo Antônio da Patrulha	Napa Paulista	4900	5966	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	80
					<i>M. javanica</i> (Est. J3)	20
141	Maquine ²	RB935581	2400	2578	<i>M. enterolobii</i> (Est. M2)	100
143	Maquine	RB845257	1138	9478	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	50
					<i>M. arenaria</i> (Est. A2)	50
144	Maquine	RB008347	2106	3800	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	25
					<i>M. enterolobii</i> (Est. M2)	75
145	Maquine	RB867515	4026	6258	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	60
					<i>M. enterolobii</i> (Est. M2)	40
147	Osorio ³	Napa Paulista	4126	1930	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	100
148	Osorio	Mulata	2472	2900	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	100
149	Osorio	Napa Paulista	1970	5530	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	100
151	Osorio	Manteiga	4870	8040	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	75
					<i>M. javanica</i> (Est. J3)	25
152	Osorio	RB855156	6418	1732	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	100
153	Caxias do Sul ⁴	RB867515	1234	2680	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	100
154	Caxias do Sul	RB946903	620	15340	<i>M. luci</i> (Est. L3)	100

Amostra	Localidade	Variedade	N° de <i>Meloidogyne</i>		<i>Meloidogyne</i> spp./ Fenótipo de esterase	Ocorrência (%)
			Solo (100 cm³)	Raiz (10g)		
155	Caxias do Sul	RB925268	230	10700	<i>M. arenaria</i> (Est. A2)	100
156	Caxias do Sul	RB855156	450	19740	<i>M. javanica</i> (Est. J3)	100
157	Caxias do Sul	RB845210	670	12140	<i>M. javanica</i> (Est. J3)	100
158	Caxias do Sul	RB867515	980	10240	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	100
159	Viamão ⁵	RB845210	750	4600	<i>M. morrocienis</i> (Est. A3)	100
160	Viamão	RB966928	904	4800	<i>M. arenaria</i> (Est. A2)	100
161	Viamão	RB867515	516	10800	<i>M. javanica</i> (Est. J3)	100
162	Viamão	RB935744	1216	6000	<i>M. javanica</i> (Est. J3)	75
					<i>M. arenaria</i> (Est. A2)	25
163	Viamão	RB855156	1517	4700	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	25
					<i>M. arenaria</i> (Est. A2)	75
164	Viamão	RB845210	800	17400	<i>M. javanica</i> (Est. J2a)	100
165	Santa Maria ⁶	RB845210	320	1960	<i>M. javanica</i> (Est. J3)	50
					<i>M. arenaria</i> (Est. A2)	50
166	Santa Maria	RB008347	120	9000	<i>M. javanica</i> (Est. J3)	30
					<i>M. arenaria</i> (Est. A2)	70
167	Santa Maria	RB845210	670	16860	<i>M. morrocienis</i> (Est. A3)	100
168	Santa Maria	RB925345	430	19600	<i>M. javanica</i> (Est. J3)	100
169	Santa Maria	RB855156	770	4700	<i>M. morrocienis</i> (Est. A3)	100
170	Santa Maria	RB867515	660	9980	<i>M. ethiopica</i> (Est. E3)	70
					<i>M. hapla</i> (Est. H1)	30
171	Santa Maria	RB855156	984	6400	<i>M. luci</i> (Est. L3)	100
172	Pelotas ⁷	-	450	3590	<i>M. incognita</i> (Est. I2)	100
173	Pelotas	RB008347	670	2189	<i>M. javanica</i> (Est. J3)	100
174	Pelotas	RB855156	1609	750	<i>M. javanica</i> (Est. J3)	100

(-) variedade não identificada; * A ocorrência foi calculada a partir de 30 fêmeas por amostra, caracterizada utilizando a esterase (Est) (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001).^{1, 2, 3} Litoral Norte do RS; ⁴ Serra Gaúcha; ⁵Região Metropolitana de Porto Alegre; ⁶ Região Central do RS; ⁷ Região Sul do RS.



N° banda	Rm	<i>M. javanica</i>	<i>M. javanica</i>	<i>M. incognita</i>	<i>M. arenaria</i>	<i>M. ethiopica</i>	<i>M. enterolobii</i>	<i>M. morocciensis</i>	<i>M. luci</i>	<i>M. hapla</i>
14	1,40									
13	1,35									
12	1,30	—	—							
11	1,25				==	—		==	—	
10	1,20	—						==		—
9	1,18							==		
8	1,16								—	
7	1,10								—	
6	1,05									
5	1,00	—	—	—		—			—	
4	0,95					
3	0,90					—				
2	0,75								
1	0,70						—			
Est		J3	J2a	I2	A2	E3	M2	A3	L3	H1
% Geral		29,7	5,4	51,3	18,9	5,5	8,1	8,1	8,1	2,7

Figura 2- Fenótipos de esterase (Est) detectados em populações de *Meloidogyne* spp. coletadas em áreas de cultivo de cana-de-açúcar nas regiões da Serra Gaúcha, Litoral Norte, Central e Sul do Rio Grande do Sul (J3 – *M. javanica*; J2a – *M. javanica*; I2 – *M. incognita*; A2 – *M. arenaria*; E3 – *M. ethiopica*; M2 – *M. enterolobii*; A3 – *M. morocciensis*; L3 – *M. luci*; H1 – *M. hapla*).

Meloidogyne incognita foi a espécie predominante nas amostras coletadas no RS, principalmente no Litoral Norte do estado (93,75%), corroborando com os dados de ocorrência que vem sendo encontrados nas principais regiões canavieiras do nordeste do país (CHAVES et al., 2002; MOURA et al., 2009; NORONHA et al., 2017) e em São Paulo (DINARDO-MIRANDA, 2008). Embora na maioria dos trabalhos

conduzidos no referido patossistema não tenha sido discriminado o fenótipo de esterase, em levantamento conduzido no estado do Paraná, Severino et al., (2008) verificaram a ocorrência de *M. incognita* Est. I1 em 21,62% das amostras analisadas. Já Moura et al. (2009), em Pernambuco, verificaram a ocorrência de ambos os fenótipos em aproximadamente 30% das amostras, percentagem abaixo da observada nesse estudo. Enquanto que Noronha et al. (2017), em Alagoas, detectou a presença de *M. incognita* (Est. 1 e I2) na maioria das amostras (60%), predominando a ocorrência do fenótipo I2.

Quando comparados os resultados apresentados no presente estudo com aqueles obtidos por Bellé (2014), em levantamento realizado na região Norte do RS, verifica-se que *M. incognita* foi a segunda espécie de maior distribuição. Tal fato pode estar relacionado com a região de cultivo do Estado, uma vez que a temperatura média anual do Litoral Norte é mais elevada que aquela da Região Norte do RS, sendo que a temperatura ótima para *M. incognita* varia de 25 a 30°C (EVANS; PERRY, 2009; DÁVILA-NEGRÓN; DICKSON, 2013). Parâmetros físicos e químicos do solo podem estar relacionados com a espécie predominante na região estudada (KOENNING et al., 1996; TU et al., 2003). O levantamento realizado por Starr et al. (1993) no Texas, na cultura do algodão, mostrou a ocorrência de *M. incognita* entre 8% e 57%, em função da região avaliada, e uma dependência significativa com a textura do solo, com a predominância de *M. incognita* em solos arenosos, sendo que raramente foi encontrada em solos com teores de argila maiores que 40%, o que pode explicar a diferenças entre a ocorrência das espécies de *Meloidogyne* neste estudo e o realizado por Bellé (2014), já que a região do Litoral Norte apresenta solos mais arenosos e a região Norte do RS tem a predominância de solos com maiores teores de argila (EMBRAPA, 2013).

A segunda espécie mais frequente, *M. javanica*, ocorreu em 35% (29,7% Est. J3 e 5,4 Est. J2a) das amostras cuja presença do nematoide-das-galhas foi detectada. Considerando-se a região do litoral Norte, verifica-se uma relação de baixa frequência (16,7%) em comparação as demais espécies detectadas. No entanto, estes dados divergem de outros levantamentos realizados, como um estudo conduzido por Dinardo-Miranda et al. (2003), em uma região canavieira de Piracicaba, onde foi verificada a ocorrência predominante de *M. javanica* nas amostras de cana-de-açúcar estudadas. De acordo com os mesmos autores, a infestação das lavouras por essa mesma espécie representou 60% da população de nematoides presentes nas áreas.

Da mesma forma, em levantamento realizado na Região Noroeste do Paraná, Severino et al. (2008), confirmaram a presença de *M. javanica* Est. J3 em 45,95% das amostras analisadas de cana-de-açúcar. Já em trabalho recente conduzido em outras regiões canavieiras do Rio Grande do Sul, *M. javanica* foi a espécie mais frequente e ocorreu em 52,98% das amostras; no entanto, foram detectados três fenótipos de esterases (J3, J2 e J2a), sendo Est. J2 o predominante (BELLÉ, 2014).

A presença de *M. arenaria* Est. A2 foi detectado em 18,9% das amostras analisadas. Gomes e Novaretti (1985) já haviam relatado a presença de *M. arenaria* em cana-de-açúcar no estado de São Paulo, entretanto a identificação da espécie foi realizada somente com base na configuração perineal das fêmeas. Moura et al., (2009) observaram, no estado de Pernambuco, a presença de *M. arenaria* Est. A2 em aproximadamente 40% das amostras de cana-de-açúcar analisadas. Recentemente, Bellé (2014) e Noronha et al. (2017) também verificaram a presença desta espécie mas em baixa frequência nos canaviais do Rio Grande do Sul (14%) e de Alagoas (16%), respectivamente.

Outras espécies também foram detectadas nos locais amostrados como: *M. ethiopica* (5,5%), *M. enterolobii* (8,1%), *M. morocciensis* (8,1%), *M. luci* (8,1%) e *M. hapla* (2,7%), sendo estas limitadas a algumas regiões do estudo. Convém ressaltar que *M. ethiopica*, *M. luci* e *M. hapla* já haviam sido relatadas por Bellé (2014) em cana-de-açúcar, em baixa frequência, em outras regiões do RS.

Meloidogyne ethiopica foi detectado em uma lavoura de cana-de-açúcar do município de Santo Antônio da Patrulha, Litoral Norte, e em outra de Santa Maria, região Central do RS. A referida espécie tem sido associada a danos consideráveis em espécies frutíferas como a videira no Chile (CARNEIRO et al., 2003; CARNEIRO et al., 2007) e em quivi no Brasil (CARNEIRO et al., 2003; SOMAVILLA et al., 2011), representando uma grande ameaça a essas culturas devido a sua difícil erradicação. Há relatos de danos relacionados a *M. ethiopica* também em hortaliças como o tomate, batata, yacon, milho, batata, feijão caupi, abóbora, repolho, pimentão, fumo, soja e sisal e plantas daninhas (WHITEHEAD, 1968; CARNEIRO et al., 2003; SIRCA et al., 2004; CARNEIRO et al., 2004; GOMES et al., 2005; CONCEIÇÃO et al., 2012; LIMA-MEDINA et al., 2014; LIMA-MEDINA et al., 2013).

Embora *M. luci* já tenha sido relatado em cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul (BELLÉ, 2014), a referida espécie também foi detectada em lavanda (CARNEIRO et al., 2000) e quivi (SOMAVILLA et al., 2011) neste mesmo Estado, em pepino, alface,

brócolis, quiabo, feijão vagem e yacon no Distrito Federal (CARNEIRO et al., 2008), e em videira no Chile (CARNEIRO et al., 2007). Há mais de 30 anos atrás, Esbenshade e Triantaphyllou (1985) detectaram esse mesmo perfil de esterase na América do Sul (Argentina, Bolívia e Equador) e na Turquia.

A restrita distribuição de *M. hapla* nas regiões gaúchas amostradas neste estudo reflete a baixa frequência encontrada por Bellé (2014) em outros locais de cultivo de cana-de-açúcar do Rio Grande do Sul. Muito provavelmente, a competição com outras espécies frequentes em tal hospedeiro, como *M. incognita*, *M. javanica* e *Pratylenchus* spp., durante a maior parte do ano, pode estar desfavorecendo sua reprodução, uma vez que *M. hapla* tem seu ótimo em temperaturas mais amenas (SANTOS; SILVA, 1984; CARNEIRO et al., 2000). Da mesma forma, essa espécie foi relatada em estados nordestinos, quase na linha equatorial (MOURA, 1971; PONTE et al., 1977). Populações com este mesmo fenótipo têm sido identificadas, no Brasil, em quiwi, morango, batata-baroa e pessegueiro (CARNEIRO et al., 2000; GOMES et al., 2009 SOMAVILLA et al., 2011; NYOIKE et al., 2012).

Já a ocorrência de *M. enterolobii* em cana-de-açúcar, é registrada pela segunda vez no Brasil e no mundo. O primeiro assinalamento na cultura foi em Pernambuco (MOURA et al., 2012); no entanto, no primeiro registro, os autores não relacionaram os níveis populacionais e associaram sua presença a outras espécies do nematoide-das-galhas na mesma amostra, cuja frequência no presente estudo foi relacionada ou não *M. incognita* variando de 40 a 100% no local detectado. *Meloidogyne entrollobbi* é um nematoide-praga polífago relatado em muitas regiões do mundo, inclusive nos continentes africano e americano (CARNEIRO, 2001).

No Brasil, o primeiro relato de *M. enterolobii* foi feito em 2001 no Brasil (CARNEIRO et al., 2001), em goiabeira, na cidade de Petrolina-Pernambuco, Curaçá e Maniçoba na Bahia. Posteriormente, foi registrada também em goiabeira nos seguintes estados: Rio de Janeiro (LIMA et al., 2003), Rio Grande do Norte (TORRES et al., 2004), Ceará (TORRES et al., 2005), São Paulo (ALMEIDA et al., 2006), Paraná (CARNEIRO et al., 2006), Piauí (SILVA et al., 2006), Espírito Santo (LIMA et al., 2007), Paraíba (GOMES et al., 2007), Mato Grosso do Sul (ASMUS et al., 2007) e Rio Grande do Sul (GOMES et al., 2008) e em fumo (GOMES et al., 2006), pimentão (CARNEIRO et al., 2006), soja (ALMEIDA et al., 2008) e mamão (SIQUEIRA et al., 2009). Estudos envolvendo a patogenicidade dessa espécie, na cultura da cana-de-açúcar, não são conclusivos.

A ocorrência de populações mistas de *Meloidogyne* spp. detectadas nesse estudo (30%) esteve associada, predominantemente, a presença conjunta de *M. incognita* e outra espécie, na maioria das ocorrências simultâneas (72,72%). Já no levantamento realizado por Bellé (2014), espécies do nematoide-das-galhas foram encontradas em 55% das amostras, sendo que *M. javanica* Est J2 esteve frequentemente associado às amostras e sua ocorrência foi predominante na maioria dos locais coletados em misturas de outros fenótipos esterásticos de *M. javanica* ou diferentes espécies do gênero. Da mesma forma, populações mistas de *Meloidogyne* spp. tem sido observadas em levantamentos conduzidos em outras culturas como a bananeira (COFCEWICZ et al., 2004), o café (CARNEIRO et al., 2005b), a figueira (LIMA-MEDINA et al., 2006), o quivi (SOMAVILLA et al., 2011), o fumo (ARAUJO-FILHO et al., 2016) e, mais recentemente, em batata (LIMA-MEDINA et al., 2017) e arroz irrigado (NEGRETTI et al., 2017).

2.3.2 Caracterização fisiológica das populações de *Meloidogyne incognita*

Entre as populações de *M. incognita* avaliadas nos testes com plantas hospedeiras diferenciadoras, verificou-se a presença das quatro raças fisiológicas (Tabela 5). De acordo com os dados observados nesse estudo, verificou-se que a raça 1 foi detectada em uma população de *M. incognita* com o fenótipo Est. I1; a raça 2 em três populações, sendo duas com fenótipo Est. I2 e uma com fenótipo I1. Já as raças 3 e 4 foram detectadas em apenas populações com fenótipo de esterase I2.

Embora em estudo conduzido por Lima-Medina et al. (2006) tenha sido observado a predominância da raça 2 (80%) em 22 populações de *M. incognita* provenientes de figueira, independentemente do fenótipo de esterase, no presente estudo, a frequência dessa raça, apesar de ocorrer na maioria das populações, foi menor (37,5%). Adicionalmente, também não foi possível relacionar os fenótipos de esterase I1 e I2 com as raças fisiológicas detectadas (Tabela 5), conforme já observado em estudos semelhantes conduzidos por Castro et al. (2003) e Lima-Medina (2006), nos patossistemas *M. incognita* x soja e *M. incognita* x figueira, respectivamente.

Tabela 5 - Identificação de raças de *Meloidogyne incognita* através do teste de plantas hospedeiras diferenciadoras, em oito populações de *M. incognita* utilizadas no estudo de diversidade genética de populações.

Código dos Isolado	Procedência	Fenótipo Esterase	Plantas diferenciadoras			Raça
			Algodão ¹	Fumo ²	Tomate ³	
MI 17	Santo Antonio da Patrulha	I2	+	-	+	Raça 3
MI 18	Maquiné	I2	+	+	+	Raça 4
MI 19	Osorio	I2	+	+	+	Raça 4
MI 20	Frederico Westphalen	I2	-	+	+	Raça 2
MI 21	Vicente Dutra	I2	-	+	+	Raça 2
MI 22	São Luiz Gonzaga	I2	+	-	+	Raça 3
MI 23	Jaboticaba	I1	-	-	+	Raça 1
MI 24	Aratiba	I1	-	+	+	Raça 2

¹algodão (*Gossypium hirsutum* 'Deltapine 61'); ² fumo (*Nicotiana tabacum* 'NC 95'); ³ tomate (*Lycopersicon esculentum* 'Rutgers').

A identificação de raças de fitonematoides é essencial para o manejo de fitonematoides em áreas infestadas com espécies que apresentam tal variação fisiológica, levando-se em consideração a recomendação de rotação de culturas com espécies vegetais más hospedeiras (LORDELLO; LORDELLO, 1996). Embora o reconhecimento de raças seja importante na prática, Moens et al. (2009) recomendaram a descontinuidade da terminologia, sobretudo porque, esse conceito nunca foi universalmente aceito, pois mede uma variabilidade muito restrita, considerando a ampla gama de hospedeiros das quatro principais espécies de nematoides-das-galhas. Além do mais, o conceito *stricto* de raça se aplica a organismos de reprodução cruzada como *Heterodera* spp. e *Globodera* spp. por exemplo, diferentemente, da espécie aqui tratada de reprodução partenogenética (TIHOHOD, 2000), como algumas espécies de *Meloidogyne*. Nesse sentido, estudos mais detalhados a esse respeito, precisam ser feitos a fim de se elucidar a continuidade de uso da referida categorização para espécies de reprodução assexuada na recomendação de medidas de manejo, uma vez que ainda tem sido usada, especialmente para a espécie *M. incognita*.

2.3.3 Identificação das populações de *Meloidogyne* spp. por marcadores moleculares tipo SCAR

O método SCAR-PCR possibilitou a diferenciação das espécies de *Meloidogyne* estudadas (Tabela 1; Figura 3), através da amplificação de fragmentos

específicos para populações de *M. javanica* (670 pb), *M. incognita* (399 pb), *M. arenaria* (420 pb), *M. morocciensis* (420 pb), *M. ethiopica* (350 pb) e *M. enterolobii* (520 pb). Além disso, permitiram a identificação de todas as variações intraespecíficas (Tabela 1) encontradas em populações de *M. javanica*, com fenótipos de esterases distintos (Est. J3, J2 e J2a), de *M. incognita* (Est. I2 e I1) e de *M. arenaria* (Est. A1 e A2).

Em relação às populações de *M. arenaria*, embora tenham sido encontrados dois fenótipos esterásticos (A1 e A2), neste trabalho e em Bellé (2014), o marcador SCAR desenvolvido para essa espécie permitiu a amplificação de um fragmento específico para as seis populações estudadas. *M. arenaria* e *M. morocciensis* são duas espécies distintas, elas estão intimamente relacionadas uma vez que um marcador SCAR desenhado para *M. arenaria*, amplifica o fragmento alvo de 420 pb em *M. morocciensis* (CARNEIRO et al., 2008; MATTOS et al., 2016). O fragmento de DNA amplificado da população atípica *Meloidogyne* sp.1 (Est. SC1), resultou em peso molecular de 399 pb, podendo tal população ser uma variante ou uma espécie muito próxima geneticamente de *M. incognita*. Para *M. luci*, não houve amplificação com nenhum dos *primers* testados, demonstrando a especificidade dos mesmos.

Em relação às populações de *M. javanica*, embora tenham sido encontrados três fenótipos esterásticos (J3, J2 e J2a), o marcador SCAR desenvolvido para essa espécie permitiu à amplificação de um único fragmento específico para as 16 populações testadas, reafirmando a validação desse marcador como uma ferramenta na identificação molecular. O mesmo, também pode ser observado para *M. incognita* (Est. I1 e I2) e para *M. arenaria* (Est. A1 e A2). A identificação realizada através desses marcadores é simples, rápida e econômica, permitindo o processamento de um grande número de amostras ao mesmo tempo (MUNIZ et al., 2008), favorecendo um diagnóstico preciso a partir de um único juvenil ou fêmea. Estes aspectos viabilizam a utilização da referida técnica em programas quarentenários ou para análise de juvenis de segundo estágio provenientes do solo (RANDIG et al., 2002; RANDIG et al., 2004; HU et al., 2011; KIEWNICK et al., 2013; CARNEIRO et al., 2016; SEESOO et al., 2017). Os marcadores do tipo SCAR são de suma importância na identificação e diferenciação de espécies individualizadas ou em misturas, em uma mesma reação, como ocorre frequentemente na cana-de-açúcar, arroz irrigado e batata, por exemplo (BELLÉ, 2014; NEGRETTI et al. 2017; LIMA-MEDINA et al. 2017). Além disso, esses marcadores são muito precisos, pois

permitem a detecção de cerca de 1% de mistura de espécies na mesma amostra (RANDIG et al. 2002; RANDIG et al. 2004), situação bastante comum em lavouras de cana-de-açúcar, onde frequentemente *M. javanica* e *M. incognita* ocorrem em, aproximadamente, 50% das amostras no Rio Grande do Sul (BELLÉ, 2014).

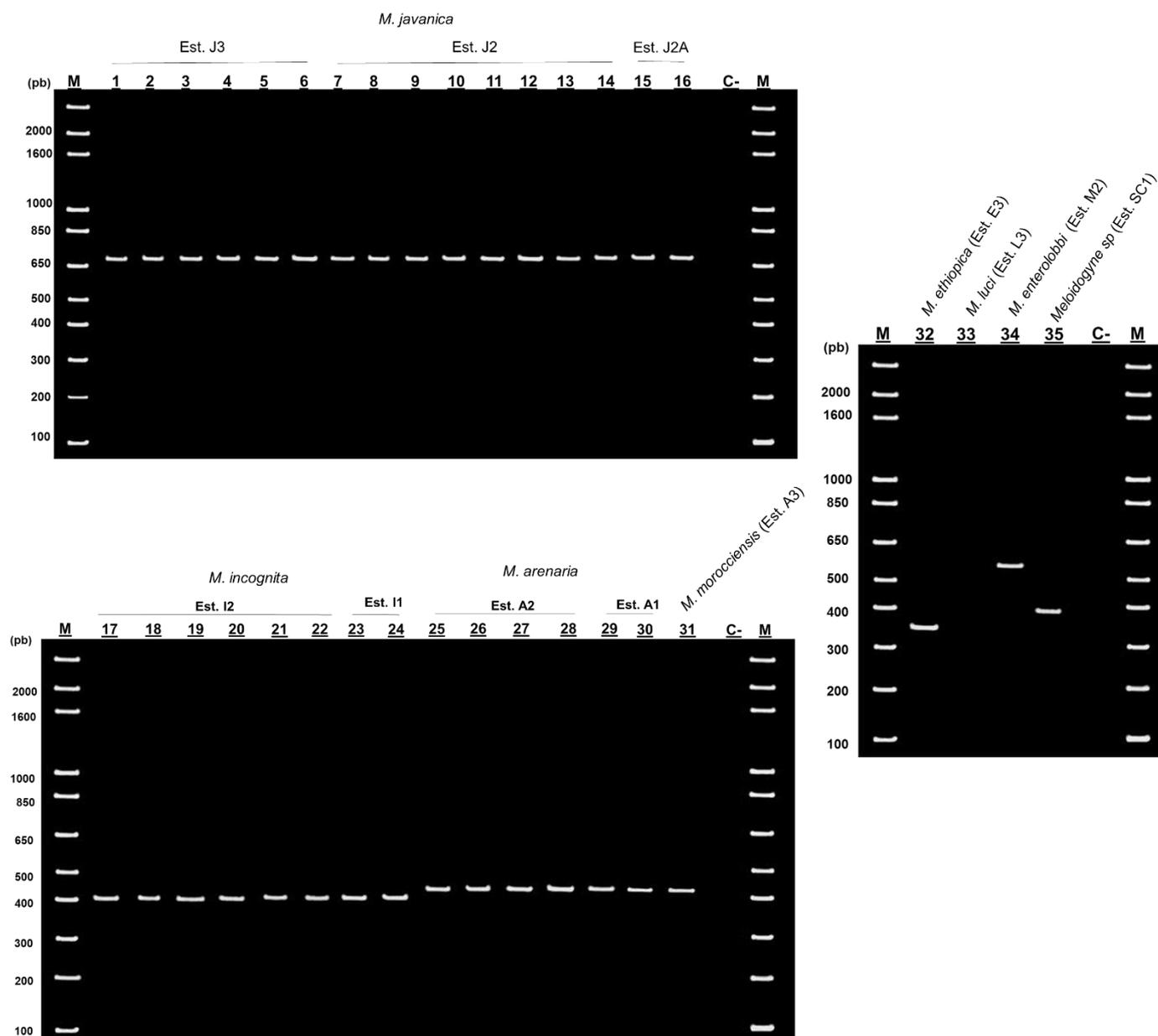


Figura 3 - Padrão de amplificação de SCAR-PCR para populações de *Meloidogyne* spp. parasitando cana-de-açúcar, no Rio Grande do Sul. Códigos das populações estão listados na tabela 1. M: 1 kb DNA plus ladder (Invitrogen); (C-): controle negativo.

2.3.4 Diversidade genética de populações de *Meloidogyne* sp. por marcadores moleculares RAPD

Utilizando-se 45 primers RAPD, o número de fragmentos reprodutíveis por cada isolado de *Meloidogyne* spp. (Tabela 1) variou de 2 a 18, sendo o tamanho do fragmento de 200 a 1400 bp, aproximadamente, dependendo do *primer* utilizado. Na Figura 4, pode ser verificado os perfis das 35 populações de *Meloidogyne* spp., em gel de agarose com os fragmentos amplificados com o *primer* OP E-18, sendo 273 informativos; e, alguns amplificados em todos os isolados testados (fragmentos monomórficos), como por exemplo, o fragmento de 600 pb (Figura 4).

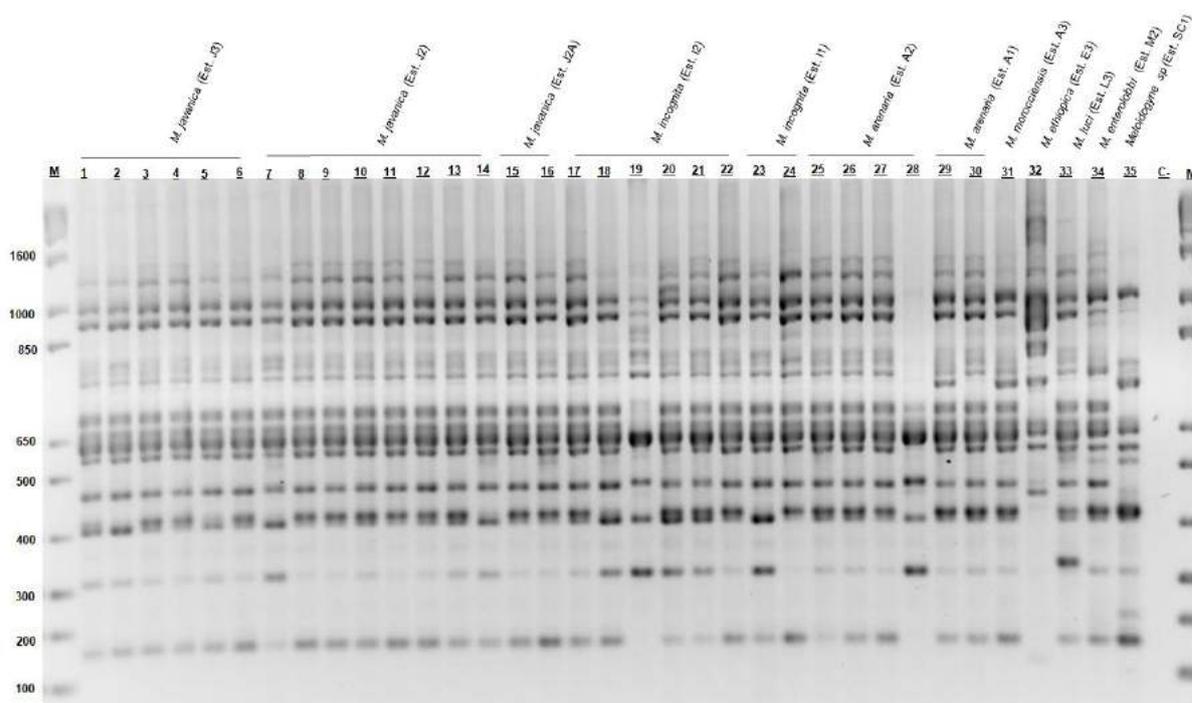


Figura 4 - Polimorfismo de fragmentos de DNA de 35 populações de *Meloidogyne* spp., gerado pelo *primer* OP E-18. As reações foram realizadas em duplicata e a eletroforese em dois géis separados, sendo um a cópia do outro. (-): reação controle sem DNA; M: marcador de peso molecular 1kb Plus DNA Ladder.

O número mínimo de 234 fragmentos e máximo de 394 foram amplificados para as espécies de *Meloidogyne* testadas, dependendo do *primer* utilizado, cuja porcentagem de bandas polimórficas variou de 21 a 31,5%, independentemente da espécie, ou seja, observando-se um baixo polimorfismo (Tabela 6).

Tabela 6 - Proporção de fragmentos polimórficos de RAPD observados a nível de espécie para trinta e cinco populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de cultivo de cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul.

Espécie de <i>Meloidogyne</i>	Fragmentos de RAPD	
	Amplificados	Polimorfismo
<i>M. javanica</i> (J3)	308	34 (11,0%)
<i>M. javanica</i> (J2)	302	27 (8,9%)
<i>M. javanica</i> (J2a)	299	29 (9,7%)
<i>M. javanica</i> (J3) + <i>M. javanica</i> (J2)	297	35 (11,7%)
<i>M. javanica</i> (J3) + <i>M. javanica</i> (J2a)	332	56 (16,8%)
<i>M. javanica</i> (J2) + <i>M. javanica</i> (J2a)	341	65 (19,0%)
<i>M. javanica</i> (J3 + J2 + J2a)	394	109 (27,6%)
<i>M. incognita</i> (I2)	251	39 (15,5%)
<i>M. incognita</i> (I1)	275	34 (12,4%)
<i>M. incognita</i> (I1) + <i>M. incognita</i> (I2)	291	61 (21,0%)
<i>M. arenaria</i> (A1)	312	97 (31,1%)
<i>M. arenaria</i> (A2)	245	75 (30,6%)
<i>M. arenaria</i> (A1) + <i>M. arenaria</i> (A2)	279	88 (31,5%)
<i>M. arenaria</i> (A1 + A2) + <i>M. morocciensis</i> (A3)	287	91 (31,7%)
<i>M. arenaria</i> (A1) + <i>M. morocciensis</i> (A3)	234	79 (33,8%)
<i>M. arenaria</i> (A2) + <i>M. morocciensis</i> (A3)	252	74 (29,4%)

No dendrograma gerado (Figura 5), a partir da análise de RAPD, pode-se observar a formação de três grupos principais (*M. javanica*, *M. arenaria* + *M. morocciensis* e *M. incognita* + *Meloidogyne* sp Est. SC1) e dois secundários (*M. ethiopica*, *M. luci* e *M. enterolobii*). Em cada grupo, as populações de cada espécie agruparam-se com *bootstrap* de elevada similaridade.

O primeiro grupo foi formado por 16 populações de *M. javanica* o qual apresentou um *bootstrap* de 100, entre as mesmas e uma baixa porcentagem de polimorfismo (Tabela 4). Não houve separação dentro de cada grupo entre populações em função do fenótipo de esterase (J3, J2), como pode ser verificado nas populações Mj6 (Est. J3 – Vista Alegre) e Mj10 (Est. J3 – Frederico Westphalen), advindas de localidades geograficamente distante as quais se agruparam com um *bootstrap* de 80. O mesmo pode-se observado para as populações Mj4 (Est. J3 – Santo Ângelo) e Mj14 (Est. J2 – Crissiumal) as quais se agruparam com um *bootstrap* de 68. As duas populações de *M. javanica* (Mj15 Est. J2a – São Luiz Gonzaga e Mj16 Est. J2a - Pinherinho do Vale) agruparam-se em um subclado com um *bootstrap* de 87 demonstraram, também, um alto grau de similaridade (Figura 5, Tabela 6).

O segundo grupo está composto por seis populações de *M. arenaria* (Est. A1 e A2) e por uma população de *M. morocciensis* (Est. A3) apresentaram um bootstrap de 98 e um polimosfismo de 31,7% entre as mesmas (Figura 5, Tabela 6). Já as oito populações de *M. incoginta* (Est. I e I2) e de *Meloidogyne* sp. Est. SC1 se agruparam em um clado com 99 de bootstrap, não diferenciando os fenótipos de esterase. As espécies *M. ethiopica* (Est E3), *M. luci* (Est L3) e *M. enterolobii* (Est M2) se agruparam separadamente com um *bootstrap* baixo.

Neste estudo, as diferentes populações de *Meloidogyne* foram agrupadas independentemente das origens geográficas. Da mesma forma, Devran et al. (2008) relataram a ausência de correlação entre o nível de similaridade genética e a origem geográfica em três espécies *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. incognita* (COFCEWICZ et al., 2004; COFCEWICZ et al., 2005; MATTOS et al., 2016; LIMA-MEDINA et al., 2017).

Em estudos de variabilidade genética de populações do nematoide-das-galhas, *M. javanica* tem sido relatada como uma espécie de baixa variabilidade intraespecífica (CASTGNONE-SERENO et al., 1994; BLOK et al., 1997; MATTOS et al., 2016; LIMA-MEDINA et al., 2017). Estudos realizados por Cofcewicz et al. (2004) com sete populações de *M. javanica* provenientes de bananeiras de diferentes regiões do Brasil, revelaram uma variabilidade intraespecífica de 29,1%, que é considerada baixa. Mattos et al. (2016), avaliando populações de *M. javanica* da soja, também detectaram uma variabilidade de aproximadamente 27%, muito semelhante ao verificado neste estudo. Entretanto, em estudo realizado por Carneiro et al. (1998), onde foram comparadas populações de *M. javanica* provenientes de diferentes regiões do Brasil, foi constatada significativa variabilidade intraespecífica, observada em caracteres morfológicos e moleculares (marcadores RAPD).

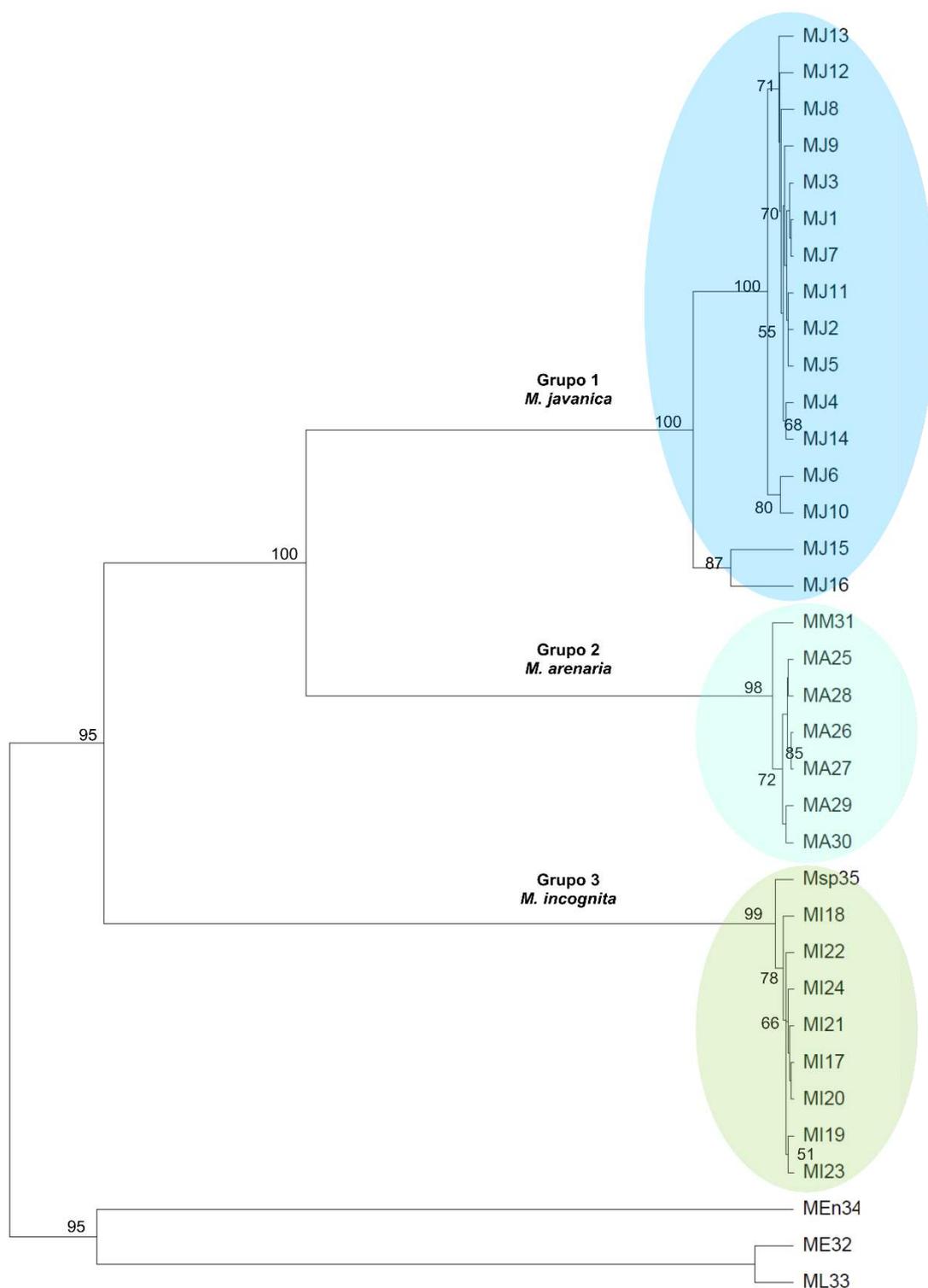


Figura 5 - Dendrograma dos dados obtidos com marcadores RAPD de *Meloidogyne* spp. Códigos em negrito indicam as espécies e populações discriminadas na Tabela 1. Números próximos aos nós indicam as probabilidades de similaridade. Nós sem valores indicam similaridade abaixo de 50%.

Similarmente aos resultados obtidos nesse estudo, vários estudos têm demonstrado baixo polimorfismo genético intraespecífico em populações de *M. incognita* (CASTAGNONE-SERENO et al., 1994; BLOCK et al., 1997; SANTOS et al.,

2012). Cofcewickz et al. (2004), estudando a diversidade genética de populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de *Musa* spp., coletados no Brasil, detectaram baixa variabilidade intraespecífica (20,1%) com base em marcadores RAPD em cinco isolados de *M. incognita*. Em estudos posteriores, os mesmos autores relataram baixo polimorfismo e baixa variabilidade intraespecífica em populações de *M. incognita* (14,9%) provenientes de bananeiras (COFCEWICZ et al., 2005). Carneiro et al. (2004b), da mesma forma, observaram reduzido polimorfismo (11%) em populações de *M. incognita* (Est. I1 e I2) quando estudaram a variabilidade genética de *Meloidogyne* spp. em amostras provenientes de cafeeiros provenientes do Brasil, da América Central e do Hawaii pela técnica RAPD.

As oito populações de *M. incognita* (Est. I1 e I2) estudadas produziram um polimorfismo de 21,0%, corroborando com os valores obtidos (15,3%) em estudos conduzido por Mattos et al. (2016), os quais estão um pouco abaixo daqueles obtidos por Randig et al. (2002), cujos autores testaram 27 *primers* RAPD e obtiveram um polimorfismo de 30% para quatro populações de *M. incognita* patogênicas ao cafeeiro. No entanto, todas as populações utilizadas nesse estudo, agruparam-se com suporte alto (99%) de *bootstrap*, similarmente aos resultados encontrados por Santos et al. (2012), que também obtiveram um agrupamento de 12 populações de *M. incognita* com 100% de *bootstrap*.

Meloidogyne sp. Est. SC1 agrupou-se no mesmo clado de *M. incognita* partilhando o fragmento de mesmo tamanho de DNA amplificado pelo par de *primers* (inck14F/R) desenhado para *M. incognita*, o que pode ser uma variante ou uma espécie muito próxima geneticamente de *M. incognita*. No entanto, estudos morfológicos, morfométricos e moleculares (sequenciamento multilocus ou genoma completo) complementares são necessários para comprovar tal inferência.

Existem poucos estudos sobre a variabilidade de *M. arenaria* na literatura. Cofcewickz et al. (2005), estudando a diversidade genética de populações de *Meloidogyne* spp. coletados em banana nos países Martinique, Guadeloupe e Guiana Francesa, detectaram baixa variabilidade intraespecífica (23,3 a 29%) em populações de *M. arenaria*, com base em marcadores RAPD, comparativamente ao presente estudo cuja relação foi de 31%. Já Randig et al. (2002) estudando variabilidade de 4 populações de *M. arenaria* provenientes de diferentes regiões do Brasil (Pato Branco/PR, Gramado/RS, Pelotas/RS e Nova Soure/BA) por através do marcador RAPD, verificaram um alto grau de variabilidade intraespecífica 69,8%. As

discrepâncias entre estes estudos pode ser atribuída ao fato de *M. arenaria* ser considerada uma espécie ‘enxame’, a qual a apresentado com maior variação morfológica, isoenzimática, citológica e molecular, dentro do gênero *Meloidogyne* (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991; CARNEIRO et al., 2008).

Meloidogyne morocciensis foi uma espécie que mostrou-se muito próxima de *M. arenaria* utilizando-se marcadores RAPD conforme já observado (TIGANO et al., 2005; CARNEIRO et al., 2008). Essa espécie foi descrita pela primeira vez no Marrocos, parasitando plantas de pessegueiro. *M. morocciensis* foi inicialmente identificada, com base nos padrões perineais, como *M. arenaria*. Por muitos anos, ambas as espécies foram confundidas; com o advento da identificação bioquímica através da esterase e de caracterizações moleculares, foi realizada a devida separação das espécies. Em estudo realizado por Tigano et al. (2005), isolados de *M. arenaria* e *M. morocciensis* apresentaram fragmentos 18S rDNA amplificados do mesmo tamanho (1112 pb). Carneiro et al. (2008), por sua vez, relataram um estudo em que *M. arenaria* (Est A3) provenientes da França e do Brasil se agruparam com alto suporte de *bootstrap* a *M. morocciensis*, e se separaram completamente de populações de *M. arenaria* (Est A1 e Est A2). Com base em estudos morfológicos, foi comprovado que as populações Est A3 eram na verdade, *M. morocciensis*. Apesar de hoje, tratarem-se de duas espécies distintas, ambas são intimamente relacionadas uma vez que um marcador SCAR desenhado para *M. arenaria*, amplifica o fragmento alvo de 420 pb em *M. morocciensis*. No entanto, apesar de molecularmente idênticas (SCAR), as duas espécies diferem citológica, morfológica e bioquimicamente (CARNEIRO et al., 2008).

Em estudos realizados por Cofcewicz et al. (2004, 2005), foi verificado que o uso de marcadores RAPD permitiu avaliar a variabilidade tanto entre diferentes espécies de *Meloidogyne* como dentro das mesmas espécies. Em relação a variabilidade intraespecífica, o recomendável é a inserção de populações de *Meloidogyne* de diferentes procedências e com comprovada variabilidade para poder distinguir a existência da variabilidade genética. A baixa variabilidade genética encontrada em populações de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* encontrada no presente estudo, pode estar relacionada à reprodução partenogenética mitótica dessas espécies, o que teoricamente gera descendentes clonais (TRIANANTAPHYLLOU, 1985).

2.4 Conclusões

Diferentes espécies de *Meloidogyne* parasitam a cultura da cana-de-açúcar nas regiões da Serra Gaúcha, Litoral Norte, Central e Sul do Rio Grande do Sul, sendo *Meloidogyne incognita*, a mais frequente; ocorrendo também *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. ethiopica*, *M. enterolobii*, *M. morocciensis*, *M. luci* e *M. hapla*.

Diferentes raças fisiológicas de *M. incognita* ocorrem na cana-de-açúcar e não há relação entre os fenótipos de esterases.

Utilizando-se os marcadores RAPD foi detectada uma baixa variabilidade intraespecífica entre populações de *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria* na cultura da cana-de-açúcar.

3 CAPÍTULO II - AGRESSIVIDADE DE POPULAÇÕES DE *Meloidogyne* spp. em DIFERENTES GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR

3.1 Introdução

Entre os problemas que afetam o cultivo da cana-de-açúcar, de origem fitossanitária afetam consideravelmente a cultura em diferentes regiões do mundo (CADET; SPAULL, 2005). Dentre esses, os nematoides parasitas de plantas são considerados um dos principais fatores limitantes devido à alta suscetibilidade da cana-de-açúcar aos nematoides-das-galhas (*Meloidogyne* spp.) e das lesões (*Pratylenchus* spp.); e, à ampla gama de plantas hospedeiras desses grupos de patógenos (DINARDO-MIRANDA, 2005; DINARDO-MIRANDA, 2008), sendo o gênero *Meloidogyne* o mais amplamente distribuído geograficamente nas regiões canavieiras do globo (BLAIR et al., 1999; BLAIR; STIRLING, 2007; BERRY et al., 2008; BELLÉ, 2014; ONKENDIA et al., 2014).

No Brasil, diferentes espécies do gênero *Meloidogyne* encontram-se distribuídas em diversas regiões produtoras de cana-de-açúcar, sendo *M. javanica* e *M. incognita* aquelas mais frequentes na cultura (CHAVES et al., 2004; SEVERINO et al., 2008; BELLÉ, 2014; NORONHA et al., 2016). Em levantamento recente, *M. javanica* foi relatada como a espécie mais frequentemente encontrada em diversas regiões do Rio Grande do Sul (BELLÉ, 2014), sendo também considerada, aquela de maior ocorrência na maioria das regiões canavieiras do globo (TAYLOR; SASSER, 1978, CADET; SPAULL, 2005).

Plantas de cana-de-açúcar afetadas por *Meloidogyne* spp., apresentam sintomas na parte aérea como redução do vigor, folhas murchas e com tonalidades diversas. Além disso, raízes infectadas por esse patógeno exibem pequenos engrossamentos, denominados de galhas. Estas galhas geralmente desenvolvem-se nas extremidades das raízes, no entanto, muitas vezes, são de tamanho diminuto, e, portanto, difíceis de serem notadas a olho nú (NOVARETTI et al., 1981; REGIS; MOURA, 1989). Nas raízes infectadas, também pode ser observada a destruição do córtex com a presença de áreas necróticas distribuídas irregularmente, principalmente nas radículas (CADET; SPAULL, 2005). Além disso, plantas debilitadas em função do

parasitismo do nematoide-das-galhas, podem se tornar mais vulneráveis a outros patógenos de solo, como *Fusarium* sp. e *Rhizoctonia* sp, acarretando danos mais severos (CHAVES et al., 2007).

Entre as práticas de controle utilizadas no manejo do nematoide-das-galhas nas diferentes culturas agrícolas, o uso da resistência genética é considerada uma das táticas mais desejadas por ser economicamente viável e acessível aos produtores, além de não representar riscos à saúde humana e ao meio ambiente. No entanto, embora seja uma prática desejável, não existem materiais genéticos de cana-de-açúcar resistentes a *Meloidogyne* spp. disponíveis para uso no mercado brasileiro (SILVA et al., 2012; SILVA et al., 2016; BELLÉ et al., 2017); ou mesmo fora do País (CADET; SPAULL, 2005; STIRLING, 2006; CHIRCHIR et al., 2015). Entre os trabalhos encontrados na literatura e relacionados a resistência genética da cana-de-açúcar à *M. javanica* e *M. incognita*, em sua totalidade, evidenciam a suscetibilidade da cultura a tais espécies. Nessas avaliações, percebe-se que alguns genótipos apresentam diferentes graus de suscetibilidade a *Meloidogyne* spp. (DIAS-ARIEIRA et. al., 2010; BELLÉ et al., 2017). Variações na agressividade têm sido observadas entre populações de *Meloidogyne* spp. da mesma espécie em culturas como soja, trigo, alface, amendoim, lentilha, videira, café, batata e arroz (TIHOHOD; FERRAZ, 1986; LOUBSER, 1989; PATEL et al., 1993; SHARMA; GOMES, 1992; MITKOWSKI; ABAWI, 2003; POLHAREL et al., 2007; MACHADO et al., 2013; MATTOS et al., 2016; LIMA-MEDINA et al., 2017; BRUM, 2017). De acordo com Hussey e Janssen (2002) e Roberts (2002), a agressividade reflete a habilidade de reprodução dos nematoides em hospedeiras suscetíveis, enquanto que a virulência é a capacidade do patógeno em se reproduzir em um hospedeiro resistente.

No entanto, investigações quanto a agressividade e possível variabilidade genética de populações da mesma espécie, em cana-de-açúcar, no país e no mundo, estão mais voltadas ao nematoide-das-lesões (BARBOSA et al., 2013; BISOGNIN, 2017); enquanto que para o gênero *Meloidogyne*, são incipientes. Em estudo conduzido por Bellé (2014), embora o autor tenha observado variação no padrão de esterase de populações de *M. javanica* e *M. incognita* provenientes de amostras da cana-de-açúcar, não foi avaliado o comportamento destas populações quanto à reprodução e interferência do nematoide no desenvolvimento de genótipos dessa cultura. Considerando-se a necessidade de informações relacionadas aos potenciais danos causados por essas espécies em cana-de-açúcar, teve-se por objetivo, nesse

trabalho, avaliar a agressividade de diferentes populações de *M. javanica* e *M. incognita* provenientes de diferentes regiões canavieiras do Rio Grande do Sul em diferentes genótipos de cana-de-açúcar.

3.2 Material e métodos

O presente estudo foi conduzido nas casas de vegetação e dependências do laboratório de Fitopatologia e Central Analítica da Embrapa Clima Temperado, em Pelotas, RS. Avaliou-se a agressividade de seis populações de *M. javanica* e de *M. incognita* (Tabela 7), provenientes de diferentes regiões canavieiras do Rio Grande do Sul (BELLÉ, 2014), sendo a mesma testada em dois genótipos de cana-de-açúcar com diferentes graus de suscetibilidade para a primeira (RB935581/S⁺ e RB008347/S; BELLÉ, 2014) e segunda espécie do nematoide-das-galhas (RB867515/S⁺ e RB928064/S; DIAS-ARIEIRA et al., 2010), respectivamente, sob condições controladas (25 ± 3 °C).

Tabela 7 - Populações de *Meloidogyne* utilizadas no estudo de agressividade, origem geográfica, espécies e os respectivos fenótipos de esterase.

Procedência (Município/RS)	Nº amostra (Levantamento)	Código do Isolado	Espécie	Fenótipo Esterase
Porto Lucena	104PL*	Mj7	<i>M. javanica</i>	J2
Frederico Westphalen	10FW*	Mj10	<i>M. javanica</i>	J2
Pelotas	134P*	Mj1	<i>M. javanica</i>	J3
Vista Alegre	55VA*	Mj6	<i>M. javanica</i>	J3
São Luiz Gonzaga	117SLG*	Mj15	<i>M. javanica</i>	J2a
Pinheirinho do Vale	32PV*	Mj16	<i>M. javanica</i>	J2a
Santo Antônio da Patrulha	SAP01**	Mi17	<i>M. incognita</i>	I2
Maquine	11M**	Mi18	<i>M. incognita</i>	I2
São Luis Gonzaga	119SLG*	Mi22	<i>M. incognita</i>	I2
Frederico Westphalen	9FW*	Mi20	<i>M. incognita</i>	I2
Jaboticaba	83J*	Mi23	<i>M. incognita</i>	I1
Aratiba	121A*	Mi24	<i>M. incognita</i>	I1

*Populações provenientes do levantamento realizado por Bellé (2014); ** populações detectadas e apresentadas no Capítulo 1.

Os genótipos utilizados neste trabalho foram provenientes do Programa de Melhoramento da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (RIDESA) em parceria com a Embrapa Clima Temperado. Nos ensaios com *M. javanica*, o trabalho foi repetido duas vezes, sendo o primeiro realizado entre 16/03/2015 e 14/07/2015; e, o segundo, entre 01/10/2015 a 28/01/2016. Já para *M. incognita*, a avaliação da agressividade também foi repetida,

sendo o primeiro ensaio realizado entre 01/04/2016 e 29/08/2016; e, o segundo, entre 03/10/2016 e 30/01/2017.

As diferentes populações de *Meloidogyne* spp. foram multiplicadas em plantas de tomateiro (cv. Rutgers) mantidas em vasos com solo esterilizado, em casa de vegetação (25 ± 3 °C), sendo a pureza de cada uma delas, verificada, periodicamente, pela técnica da eletroforese utilizando-se a isoenzima esterase (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001). Para obtenção do inóculo, raízes de tomateiros infectadas com cada uma das populações de *Meloidogyne* spp., foram processadas separadamente conforme metodologia de Hussey e Barker (1973) modificada por Bonetti e Ferraz (1981).

A multiplicação das mudas dos diferentes genótipos foi realizada através do sistema de produção de mudas pré-brotadas (MPB), adaptado de Landell et al. (2013). Para tanto, os toletes de cada variedade de cana-de-açúcar foram cortados para a retirada das gemas (minirrebolos), as quais foram colocadas em tubetes individuais com substrato comercial autoclavado (2 horas/120 °C). Decorridos 20 dias após o plantio, as mudas foram transplantadas individualmente para vasos de 4 L contendo uma mistura de solo e substrato (2:1), previamente esterilizado.

Cinco dias após o transplante das mudas, cada uma foi inoculada, individualmente, com uma suspensão contendo 5.000 ovos + juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne* sp. (população inicial) de cada uma das populações para cada espécie, separadamente. Plantas de cana-de-açúcar dos mesmos genótipos, não inoculadas com o nematoide-das-galhas, foram utilizadas para avaliação do impacto do nematoide sobre o seu desenvolvimento vegetativo (testemunhas).

Aos 120 dias após a inoculação, cada planta foi avaliada quanto à massa fresca da parte aérea e do sistema radicular (g), número de perfilhos, diâmetro do colmo (mm), altura de planta (cm), área foliar (cm²) e índices de clorofila (Clorofila *a*, Clorofila *b* e Clorofila Total). Posteriormente, a parte aérea de cada planta foi triturada e seca em estufa de circulação de ar forçada (60° C por 96 horas) e depois moída e separada 50 g para análise de digestibilidade [Fibra em detergente neutro (FDN) e Fibra em detergente ácido (FDA)], celulose, hemicelulose e lignina através espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) (modelo NIR FLEX N500, BÜCHI).

A altura das plantas foi avaliada pela medição da distância da superfície do solo até a região auricular da folha+1 (designação dada à primeira das folhas com bainha exposta, contadas a partir do ápice da planta) de acordo com a numeração proposta

por Kuijper (DILLEWIJN, 1952) (Figura 6). Já o diâmetro do colmo, foi determinado no segundo entrenó acima da superfície do solo com o auxílio de paquímetro digital. A área foliar (AF) foi determinada por meio da contagem do número de folhas verdes (folha totalmente expandida com o mínimo de 20% de área verde, contada a partir da folha +1) e pelas medições nas folhas +3, sendo obtidos o comprimento e a largura da folha na porção mediana, segundo metodologia descrita por Hermann e Câmara (1999): $AF = C \times L \times 0,75 \times (N + 2)$, onde 'C' é o comprimento (cm) da folha +3, 'L' é a largura (cm) da folha +3; '0,75' é o fator de correção para área foliar da cultura, e, 'N' é o número de folhas abertas com pelo menos 20% de área verde. O índice de clorofila foi aferido por meio do medidor portátil ClorofiLOG1030® na folha +3 das plantas de cana-de-açúcar.

A seguir, as raízes de cada planta foram lavadas e avaliadas quanto a massa fresca e número de galhas. Na sequência, procedeu-se a extração de ovos e J₂ das raízes de cada planta pela técnica de Hussey e Barker (1973) modificada por Bonetti e Ferraz (1981) para quantificação da população final e determinação do fator de reprodução (FR = população final/população inicial) de cada uma das populações de cada espécie de *Meloidogyne* conforme Oostenbrink (1966). Além disso, foi estimado o número de nematoides por grama de raiz, sendo esse, definido pela razão entre o número total de nematoides e a massa total das raízes, em gramas, de cada repetição.

Cada um dos ensaios foi conduzido em esquema fatorial 7 x 2 (6 populações de *Meloidogyne* e testemunha sem nematoide e 2 genótipos de cana-de-açúcar) em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições por tratamento, sendo cada unidade experimental representada por uma planta. Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk. Para a variável número de galhas foi necessária a transformação dos dados [$\sqrt{(x+0,5)}$]. Posteriormente, os valores das diferentes variáveis, foram submetidos a análise de variância ($p \leq 0,05$), sendo as médias dos tratamentos comparadas entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade, utilizando-se o software Genes (CRUZ, 2006). Complementarmente, os valores das diferentes variáveis foram correlacionados entre si pela análise de correlação de Pearson ($p \leq 0,05$). Sendo ao final selecionado uma população mais agressiva de cada espécie para estudos posteriores de resistência genética.



Figura 6 - Esquema de numeração de folhas de um colmo de cana-de-açúcar conforme sistema proposto por Kuijper (DILLEWIJN, 1952).

3.3 Resultados e discussão

De acordo com os resultados observados neste estudo, verificou-se interação significativa entre os genótipos de cana-de-açúcar e populações de *M. javanica* e *M. incognita* para a maioria das variáveis relacionadas a reprodução e danos causados pelo nematoide, bem como aquelas associadas ao desenvolvimento das plantas (Tabelas 8 a 19).

Na avaliação da agressividade de populações de *M. javanica* sobre os genótipos de cana-de-açúcar, verificou-se interação significativa entre os fatores para número de galhas, reprodução do nematoide, peso da parte aérea e das raízes, área foliar, Clorofila *b* e total (Tabelas 8, 9, 10 e 11). Já para altura de plantas, número de perfilho, diâmetro do colmo, Clorofila *a*, fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, celulose e hemicelulose, não observou-se interação significativa entre os fatores (Tabelas 10, 11, 12 e 13).

Com relação aos danos causados por *M. javanica*, verificou-se maior número de galhas nas raízes (Tabela 8) da variedade RB935581 quando comparada a 'RB008347', independentemente da população testada. Quando avaliado o efeito das populações do nematoide, dentro de cada genótipo, observou-se que 'P_{j3}' e 'P_{j4}' foram mais agressivas em ambos os genótipos conforme maiores valores de número de galhas das duas variedades de cana-de-açúcar.

Na avaliação do número de nematoides por grama de raiz, dentro do fator cultivar, a população P_{j3} de *M. javanica* resultou em maiores níveis; e, para FR, de forma semelhante à variável número de galhas, as populações P_{j3} foi a mais agressiva nos dois genótipos, multiplicando-se mais, sobretudo a primeira, conforme observado nos dois experimentos (Tabela 8). Adicionalmente, na avaliação das duas variáveis, dentro de cada população, houve maior densidade populacional do nematoide no genótipo RB935581.

Analisando-se a interferência do nematoide-das-galhas sobre o desenvolvimento das plantas de cana-de-açúcar, para a variável massa fresca do sistema radicular (Tabela 9), observou-se interferência do patógeno sobre ambos genótipos estudados em relação às respectivas testemunhas não inoculadas, havendo maior redução do peso (29 a 81%) sobretudo com a população P_{j3} para os ambos genótipos no experimento 1; enquanto que, para o experimento 2, além de P_{j3},

as populações P_j2 e P_j4 foram aquelas que mais afetaram a massa das raízes para o genótipo RB935581; e, 'P_j4' na variedade RB008347. No entanto, independentemente da inoculação, 'RB935581' foi o genótipo onde se observaram os menores valores de massa fresca das raízes.

Todas as populações de *M. javanica* afetaram negativamente a massa fresca da parte aérea das plantas inoculadas (45 a 75%) em ambos os genótipos (Tabela 9), sendo P_j3 aquela que mais influenciou na redução de tal variável, cujo genótipo RB935581 foi mais afetado, independentemente da inoculação nos dois experimentos analisados conjuntamente. Em relação à altura de plantas (Tabela 9) nos diferentes tratamentos, observou-se que a população P_j3 foi a mais agressiva em ambos genótipos, apesar das populações P_j5 e P_j6 não diferirem quando inoculadas em RB935581 e RB008347, respectivamente, no primeiro ensaio.

Quanto à interferência de *M. javanica* no número de perfilhos e no diâmetro do colmo das plantas de cana-de-açúcar (Tabela 10), de uma maneira geral, todas as populações do nematoide afetaram negativamente ambas variáveis em comparação com as plantas não inoculadas nos dois experimentos, independentemente do genótipo.

Foi verificado um decréscimo significativo da área foliar das plantas inoculadas com *M. javanica* quando comparado com a testemunha sem a presença dos nematoides, sendo a população P_j3 aquela que causou as maiores reduções nas duas variedades de cana-de-açúcar (Tabela 10). Independente da população o genótipo RB935581 foi o mais afetado.

Para o índice de clorofila *a*, não houve interação entre os tratamentos. Porém, dentro de cada genótipo, observou-se diferença significativa entre as plantas inoculadas, independentemente da população do nematoide-das-galhas comparativamente àquelas não inoculadas, havendo redução média de 31% em função do patógeno (Tabela 11). Já para a variável clorofila *b*, *M. javanica* interferiu negativamente nos índices, cuja redução foi de 56% comparativamente às plantas não inoculadas. O genótipo RB935581 apresentou maiores valores de clorofila *b*; e, na avaliação dos referidos índices, dentro de cada cultivar, as respostas foram semelhantes entre as populações de *M. javanica* em ambos os ensaios. No entanto, apesar de haver interação entre os fatores, dentro de cada população, incluindo P_j0, o efeito observado foi independente da inoculação das plantas, fato também ocorrido quando analisou-se o índice de clorofila total no genótipo menos suscetível

(RB008347), conforme pode ser verificado na tabela 11. Já para 'RB935581' (genótipo mais suscetível), de uma forma geral, a população P_j3 foi a mais agressiva (redução de 64%). Porém, avaliando-se os níveis de clorofila total, independentemente da inoculação, o genótipo RB008347 apresentou menores índices da referida variável em ambos os experimentos

Em relação as variáveis FDN e FDA (Tabela 12), verificou-se que as plantas de cana-de-açúcar não inoculadas (testemunha) apresentaram os menores valores ($p < 0,05$) quando comparadas aos demais tratamentos com plantas inoculadas, independentemente do genótipo avaliado, nos dois experimentos e não houve diferenças entre as populações de *M. javanica*.

Em relação a porcentagem de lignina (Tabela 13) na parte área das plantas de cana-de-açúcar, inoculadas com o nematoide, observou-se um aumento significativo, em ambas as cultivares. De forma geral, os maiores aumentos foram observados pela inoculação das plantas com as populações P_j2, P_j3, P_j5 e P_j6. Porém, analisando-se o efeito dos tratamentos, dentro de cada população do nematoide, e, nas plantas não inoculadas, não foram observadas diferenças significativas entre as cultivares para tal variável. Já em relação à porcentagem de celulose e hemicelulose, apesar de todas as populações de *M. javanica* não diferirem entre si, foram estatisticamente distintas da testemunha não inoculada (P_j0), apresentando os maiores valores para ambas variáveis, independentemente da variedade estudada.

Tabela 8- Número de galhas nas raízes, número de nematoides (ovos + J₂) por grama de raiz e fator de reprodução de *Meloidogyne javanica* em dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de *M. javanica*.

Populações	Número de Galhas			
	Experimento 1		Experimento 2	
	RB935581 ^a	RB008347 ^b	RB935581 ^a	RB008347 ^b
P ₁	1267 C a *	1014 C b	1618 B a	1222 C b
P ₂	1118 C a	950 C b	1300 C a	1113 C b
P ₃	3061 A a	2195 A b	3909 A a	2803 A b
P ₄	1469 B a	1290 B b	1875 B a	1675 B b
P ₅	1095 C a	835 C b	1398 C a	1079 C b
P ₆	1084 C a	918 C b	1383 C a	1148 C b
CV(%)	24,82		22,77	
Número de nematoides (ovos + J ₂) por grama de raiz				
P ₁	1312 B a	905 B b	2098 B a	746 B b
P ₂	1146 B a	601 C b	2280 B a	424 C b
P ₃	3238 A a	1723 A b	6060 A a	1252 A b
P ₄	1463 B a	846 B b	2597 B a	725 B b
P ₅	1149 B a	642 C b	1927 B a	453 C b
P ₆	1199 B a	824 B b	1996 B a	582 B b
CV(%)	25,66		26,35	
Fator de Reprodução				
P ₁	29 C a	25 B b	53 C a	48 B b
P ₂	23 D a	18 C b	43 C a	32 BC b
P ₃	47 A a	34 A b	85 A a	62 A b
P ₄	33 B a	22 C b	59 B a	39 B b
P ₅	27 C a	15 C b	49 C a	27 C b
P ₆	28 C a	20 C b	51 C a	35 B b
CV(%)	20,15		22,07	

* Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%; CV = Coeficiente de Variação. P₁ - Porto Lucena (Amostra 104PL /Mj7): *M. javanica* Est. J2; P₂ - Frederico Westphalen (Amostra 10FW/Mj10): *M. javanica* Est. J2; P₃ - Pelotas (Amostra 134P /Mj1): *M. javanica* Est. J3; P₄- Vista Alegre (Amostra 55V/Mj6): *M. javanica* Est. J3; P₅ - São Luiz Gonzaga (Amostra 117SLG/Mj15): *M. javanica* Est. J2a); P₆ - Pinherinho do Vale (Amostra 32PV /Mj16): *M. javanica* Est. J2a. a) genótipo mais suscetível; b) genótipo menos suscetível.

Tabela 9 - Massa fresca do sistema radicular, massa fresca da parte aérea e altura de plantas em de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de *Meloidogyne javanica*.

Populações	Massa fresca do sistema radicular (g)			
	Experimento 1		Experimento 2	
	RB935581 ^a	RB008347 ^b	RB935581 ^a	RB008347 ^b
P ₀	229,0 A b*	283,7 A a	324,8 A b	443,1 A a
P ₁	116,6 B b	149,1 B a	108,1 B b	269,7 B a
P ₂	102,5 B b	148,5 B a	78,8 C b	313,3 B a
P ₃	74,1 C b	98,9 C a	58,9 C b	202,4 C a
P ₄	115,6 B b	134,3 B a	94,6 C b	225,3 C a
P ₅	107,7 B b	117,8 C a	104,5 B b	248,6 B a
P ₆	110,9 B b	120,4 C a	104,6 B b	254,5 B a
CV(%)	25,09		23,29	
Massa fresca da parte aérea (g)				
P ₀	306,6 A b	405,4 A a	401,8 A b	493,6 A a
P ₁	156,8 C b	216,7 B a	170,1 B b	235,1 B a
P ₂	157,3 C b	185,0 C a	170,6 B b	200,7 C a
P ₃	94,6 D b	131,1 D a	102,6 C b	142,2 E a
P ₄	160,7 B b	174,6 C a	164,4 B b	189,4 D a
P ₅	167,7 B b	189,3 C a	175,6 B b	203,2 C a
P ₆	160,9 B b	187,1 C a	174,6 B b	203,5 C a
CV(%)	23,59		18,56	
Altura de plantas (cm)				
P ₀	213,3 A	214,2 A	230,1 A	234,2 A
P ₁	188,1 B	192,8 B	202,5 B	197,6 B
P ₂	186,2 B	190,7 B	195,6 B	199,5 B
P ₃	166,8 C	169,8 C	174,5 C	163,5 C
P ₄	186,0 B	181,3 B	195,2 B	190,5 B
P ₅	173,8 BC	184,8 B	182,7 B	194,2 B
P ₆	182,9 B	177,2 C	191,8 B	186,3 B
CV(%)	14,54	16,32	17,25	19,83

* Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%; CV = Coeficiente de Variação; P₀ – Testemunha sem nematoide; P₁ - Porto Lucena (Amostra 104PL /Mj7): *M. javanica* Est. J2; P₂ - Frederico Westphalen (Amostra 10FW/Mj10): *M. javanica* Est. J2; P₃ - Pelotas (Amostra 134P /Mj1): *M. javanica* Est. J3; P₄- Vista Alegre (Amostra 55V/Mj6): *M. javanica* Est. J3; P₅ - São Luiz Gonzaga (Amostra 117SLG/Mj15): *M. javanica* Est. J2a); P₆ - Pinherinho do Vale (Amostra 32PV /Mj16): *M. javanica* Est. J2a. a) genótipo mais suscetível; b) genótipo menos suscetível.

Tabela 10 - Número de perfilho, diâmetro do colmo e área foliar de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de *Meloidogyne javanica*.

Populações	Número de perfilho			
	Experimento 1		Experimento 2	
	RB935581 ^a	RB008347 ^b	RB935581 ^a	RB008347 ^b
P _j 0	3,8 A*	3,0 A	3,8 A	4,5 A
P _j 1	1,8 B	2,7 A	2,3 B	2,5 B
P _j 2	2,0 B	2,7 A	2,6 B	2,7 B
P _j 3	1,8 B	2,1 A	1,7 C	1,5 B
P _j 4	2,5 B	2,0 A	2,5 B	2,5 B
P _j 5	2,8 B	3,0 A	2,5 B	2,7 B
P _j 6	1,8 B	2,0 A	2,2 B	2,0 B
CV(%)	16,71	15,66	21,58	20,5
Diâmetro do colmo (mm)				
P _j 0	23,1 A	23,3 A	30,7 A	32,8 A
P _j 1	17,6 B	16,2 B	19,1 B	18,2 B
P _j 2	16,1 B	17,4 B	18,6 B	19,5 B
P _j 3	15,9 B	16,0 B	17,7 B	18,0 B
P _j 4	18,5 B	16,5 B	20,7 B	18,5 B
P _j 5	17,6 B	16,4 B	19,7 B	18,4 B
P _j 6	16,6 B	17,4 B	18,6 B	19,5 B
CV(%)	19,1	19,88	16,66	18,54
Área foliar (cm ² planta ⁻¹)				
P _j 0	444,5 A b	525,7 A a	465,9 A b	552,1 A a
P _j 1	202,7 C b	329,8 C a	211,3 C b	345,5 C a
P _j 2	276,2 B b	393,5 B a	288,7 B b	412,6 B a
P _j 3	118,5 D b	258,7 D a	122,5 D b	270,4 D a
P _j 4	199,3 C b	329,2 C a	207,8 C b	344,8 C a
P _j 5	282,2 B b	380,7 B a	295,2 B b	399,1 B a
P _j 6	296,3 B b	355,2 C a	310,1 B b	372,5 BC a
CV(%)	25,32		18,84	

* Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%; CV = Coeficiente de Variação. P_j0 – Testemunha sem nematoide; P_j1 - Porto Lucena (Amostra 104PL /Mj7): *M. javanica* Est. J2; P_j2 - Frederico Westphalen (Amostra 10FW/Mj10): *M. javanica* Est. J2; P_j3 - Pelotas (Amostra 134P /Mj1): *M. javanica* Est. J3; P_j4- Vista Alegre (Amostra 55V/Mj6): *M. javanica* Est. J3; P_j5 - São Luiz Gonzaga (Amostra 117SLG/Mj15): *M. javanica* Est. J2a); P_j6 - Pinherinho do Vale (Amostra 32PV /Mj16): *M. javanica* Est. J2a. a) genótipo mais suscetível; b) genótipo menos suscetível.

Tabela 11 – Índice de clorofila *a*, *b* e total de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de *Meloidogyne javanica*.

Populações	Clorofila <i>a</i>			
	Experimento 1		Experimento 2	
	RB935581 ^a	RB008347 ^b	RB935581 ^a	RB008347 ^b
P ₀	379 A*	365 A	410 A	377 A
P ₁	275 B	264 B	301 B	257 B
P ₂	253 B	264 B	287 B	260 B
P ₃	247 B	258 B	238 B	247 B
P ₄	265 B	278 B	243 B	249 B
P ₅	267 B	268 B	267 B	264 B
P ₆	267 B	286 B	277 B	266 B
CV(%)	18,88	19,09	21,05	21,56
Clorofila <i>b</i>				
P ₀	220 A a	193 A b	232 A a	202 A b
P ₁	113 B a	89 B b	126 B a	92 B b
P ₂	105 B a	90 B b	131 B a	86 B b
P ₃	79 B a	53 B b	84 C a	73 B b
P ₄	94 B a	84 B b	121 B a	96 B b
P ₅	97 B a	57 B b	109 B a	94 B b
P ₆	98 B a	69 B b	121 B a	88 B b
CV(%)	27,41		24,96	
Clorofila Total				
P ₀	599 A a	508 A b	642 A a	579 A b
P ₁	388 B a	354 B b	427 B a	341 B b
P ₂	359 B a	339 B b	418 B a	352 B b
P ₃	330 C a	301 B b	333 C a	304 B b
P ₄	350 B a	302 B b	374 B a	355 B b
P ₅	325 C a	300 B b	376 B a	358 B b
P ₆	365 B a	350 B b	418 B a	354 B b
CV(%)	18,79		19,99	

* Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%; CV = Coeficiente de Variação; P₀ – Testemunha sem nematoide; P₁ - Porto Lucena (Amostra 104PL /Mj7): *M. javanica* Est. J2; P₂ - Frederico Westphalen (Amostra 10FW/Mj10): *M. javanica* Est. J2; P₃ - Pelotas (Amostra 134P /Mj1): *M. javanica* Est. J3; P₄-Vista Alegre (Amostra 55V/Mj6): *M. javanica* Est. J3; P₅ - São Luiz Gonzaga (Amostra 117SLG/Mj15): *M. javanica* Est. J2a); P₆ - Pinherinho do Vale (Amostra 32PV /Mj16): *M. javanica* Est. J2a. a) genótipo mais suscetível; b) genótipo menos suscetível.

Tabela 12 – Teor de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de *Meloidogyne javanica*.

Populações	Fibra em detergente neutro (FDN)			
	Experimento 1		Experimento 2	
	RB935581 ^a	RB008347 ^b	RB935581 ^a	RB008347 ^b
Pj0	56,1 B	56,5 B	64,8 B	65,3 B
Pj1	83,5 A	85,7 A	95,1 A	94,0 A
Pj2	85,3 A	85,2 A	87,3 A	94,2 A
Pj3	88,4 A	87,6 A	97,1 A	97,6 A
Pj4	79,1 A	84,1 A	91,4 A	94,5 A
Pj5	82,9 A	84,8 A	94,5 A	96,9 A
Pj6	82,7 A	84,9 A	95,1 A	96,4 A
CV(%)	26,36	25,63	24,57	26,77
Fibra em detergente ácido (FDA)				
Pj0	35,8 B	36,7 B	41,5 B	42,5 B
Pj1	48,4 A	53,2 A	54,8 A	59,6 A
Pj2	42,1 A	50,5 A	49 A	58,8 A
Pj3	53,5 A	54,6 A	57,3 A	60,3 A
Pj4	51,5 A	52,1 A	56,6 A	58,5 A
Pj5	47,6 A	51,9 A	54,9 A	57,3 A
Pj6	49,4 A	50,2 A	55,1 A	58,4 A
CV(%)	26,63	23,55	25,42	22,05

*Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%; CV = Coeficiente de Variação. Pj0 – Testemunha sem nematoide; Pj1 - Porto Lucena (Amostra 104PL /Mj7): *M. javanica* Est. J2; Pj2 - Frederico Westphalen (Amostra 10FW/Mj10): *M. javanica* Est. J2; Pj3 - Pelotas (Amostra 134P /Mj1): *M. javanica* Est. J3; Pj4- Vista Alegre (Amostra 55V/Mj6): *M. javanica* Est. J3; Pj5 - São Luiz Gonzaga (Amostra 117SLG/Mj15): *M. javanica* Est. J2a); Pj6 - Pinherinho do Vale (Amostra 32PV /Mj16): *M. javanica* Est. J2a. a) genótipo mais suscetível; b) genótipo menos suscetível.

Tabela 13 – Teor de lignina (%), celulose (%) e hemicelulose (%) da parte aérea de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de *Meloidogyne javanica*.

Populações	Lignina (%)			
	Experimento 1		Experimento 2	
	RB935581 ^a	RB008347 ^b	RB935581 ^a	RB008347 ^b
P _j 0	3,5 C*	3,3 C	3,7 C	4,2 C
P _j 1	5,1 B	6,6 B	6,3 B	8,3 B
P _j 2	6,9 A	7,9 A	8,6 A	8,9 AB
P _j 3	7,7 A	8,2 A	9,3 A	9,9 A
P _j 4	5,5 B	6,6 B	6,2 B	8,2 B
P _j 5	7,1 A	7,6 A	8,8 A	9,4 A
P _j 6	7,4 A	7,1 A	5,9 B	8,9 A
CV(%)	18,43	20,21	17,45	18,59
Celulose (%)				
P _j 0	32,9 B	33,4 B	37,8 B	38,4 B
P _j 1	43,3 A	46,6 A	48,5 A	50,9 A
P _j 2	41,1 A	42,6 A	46,4 A	49,0 A
P _j 3	46,8 A	46,5 A	49,2 A	51,4 A
P _j 4	46,5 A	45,5 A	50,4 A	50,3 A
P _j 5	40,6 A	44,3 A	46,1 A	50,9 A
P _j 6	42,0 A	43,1 A	48,0 A	49,5 A
CV(%)	17,47	19,4	18,14	19,54
Hemicelulose (%)				
P _j 0	20,3 B	19,8 B	23,3 B	22,8 B
P _j 1	35,2 A	32,5 A	40,3 A	34,4 A
P _j 2	33,2 A	34,8 A	38,2 A	36,9 A
P _j 3	37,6 A	36,0 A	40,5 A	38,8 A
P _j 4	37,0 A	32,1 A	36,3 A	36,0 A
P _j 5	35,2 A	32,9 A	39,6 A	36,6 A
P _j 6	33,2 A	34,7 A	37,9 A	38,0 A
CV(%)	18,45	21,1	20,27	22,25

*Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%; CV = Coeficiente de Variação. P_j0 – Testemunha sem nematoide; P_j1 - Porto Lucena (Amostra 104PL /Mj7): *M. javanica* Est. J2; P_j2 - Frederico Westphalen (Amostra 10FW/Mj10): *M. javanica* Est. J2; P_j3 - Pelotas (Amostra 134P /Mj1): *M. javanica* Est. J3; P_j4- Vista Alegre (Amostra 55V/Mj6): *M. javanica* Est. J3; P_j5 - São Luiz Gonzaga (Amostra 117SLG/Mj15): *M. javanica* Est. J2a); P_j6 - Pinherinho do Vale (Amostra 32PV /Mj16): *M. javanica* Est. J2a. a) genótipo mais suscetível; b) genótipo menos suscetível.

Na avaliação da agressividade das populações de *M. incognita*, verificou-se interação significativa entre os genótipos de cana-de-açúcar e as populações para as variáveis relacionadas à reprodução e danos causados pelo nematoide, bem como para aquelas variáveis associadas ao desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular, altura, diâmetro do colmo e área foliar. Já para as variáveis número de perfilhos, clorofila *a*, *b* e total, FDN, FDA, lignina, celulose e hemicelulose, não houve interação significativa entre os fatores.

Analisando-se os danos causados por *M. incognita* nas raízes das plantas inoculadas, verificou-se que os maiores valores de número de galhas (Tabela 14) foram detectados na variedade RB867515 (S⁺) nos dois experimentos. Avaliando-se os dados da referida variável das populações do nematoide dentro de cultivar, percebe-se que 'P₃' e 'P₄' foram aquelas que causaram os maiores danos em RB867515; e, 'P₁' juntamente com essas duas, foram aquelas populações onde observou-se maior número de galhas na variedade RB928064 (experimento 1). Na repetição do experimento, 'P₃' e 'P₄' mantiveram-se com aquelas que causaram maior número de galhas no genótipo mais suscetível (RB867515) além de 'P₅'; entretanto, não houveram diferenças significativas entre as populações estudadas quando inoculadas em 'RB928064' (genótipo menos suscetível).

Em relação ao número de nematoides por grama de raízes (NNPGR), maiores densidades populacionais de *M. incognita* foram observadas nas plantas inoculadas com a população P₃, independentemente do genótipo de cana-de-açúcar (Tabela 14). Porém, analisando-se as populações menos agressivas em relação ao dano, 'P₁' e 'P₂' resultaram em menores valores de NNPGR em 'RB867515', e, no genótipo RB928064, 'P₁', 'P₂', 'P₄', 'P₅' e 'P₆' não diferiram-se estatisticamente entre si. Já na comparação do NNPGR entre os genótipos, dentro de cada população do nematoide, maiores valores foram observados no genótipo RB867515 nos dois experimentos. Na avaliação da reprodução de *M. incognita* (Tabela 14), a população P₃ apresentou os maiores valores de FR para ambos os genótipos nos dois experimentos, sendo, portanto, a mais agressiva. Porém, na avaliação, dentro de cada população, a semelhança das variáveis número de galhas e NNPGR, o genótipo RB928064 comportou-se como o menos suscetível em função dos menores valores de FR (Tabela 14).

Quando analisados os dados de desenvolvimento das plantas de cana-de-açúcar, verificou-se interferência negativa do nematoide nos diferentes parâmetros

avaliados comparativamente aqueles obtidos nas plantas não inoculadas, sendo essas reduções variáveis de 20 a 80% dependendo da interação (Tabelas 15, 16, 17, 18 e 19).

Para a variável massa fresca de raízes (Tabela 15), houve uma redução média de mais de 65% na massa do sistema radicular, independentemente da população de *M. incognita* na comparação com aquelas plantas sem a presença do nematoide. Resultados semelhantes foram observados para a massa fresca da parte aérea (Tabela 15), sendo observada uma redução de 66% para a variedade RB867515 e 70% para RB928064, independentemente das das populações de *M. incognita* estudadas, sendo o genótipo RB867515, o mais afetado negativamente. Na avaliação da altura de plantas (Tabela 15), independentemente da população testada, os maiores valores foram observados na variedade RB867515 (S⁺). Todas as populações de *M. incognita* afetaram a altura das plantas de cana-de-açúcar em comparação às testemunhas não inoculadas, não havendo diferenças significativas entre as populações do nematoide em estudo para a variedade RB867515, nos dois experimentos. Já para 'RB928064' (S⁻), verificou-se um comportamento diferenciado, sendo que no primeiro experimento as populações P_{i2} e P_{i3} foram aquelas que apresentaram os menores valores; já para o segundo, não houve diferença entre as populações.

Analisando-se a variável número de perfilhos (Tabela 16), não foram observadas diferenças significativas entre os genótipos de cana-de-açúcar. No entanto, independente da variedade, as plantas não inoculadas com *M. incognita* apresentaram os maiores números de perfilhos quando comparadas com as plantas inoculadas, não havendo diferenças significativas entre as populações de *M. incognita*. Já para diâmetro do colmo, a inoculação das plantas com *M. incognita* impactou negativamente sobre tal variável, independentemente da população; e, apesar de ter sido observado interação entre os fatores, as diferenças observadas entre as cultivares (Tabela 16), inverteram-se na repetição do experimento.

Em relação a área foliar (Tabela 16), verificou-se que o genótipo RB928064 apresentou os maiores valores quando comparado com 'RB867515', independentemente da inoculação das plantas. Quando avaliado o efeito de *M. incognita* sobre a cana-de-açúcar, dentro de cada genótipo, constatou-se que a população P_{i3}, independente da variedade de cana-de-açúcar, foi aquela que resultou em maior redução da área foliar. Por outro lado, as populações P_{i2}, P_{i5} e P_{i6} para a 0

genótipo RB867515, e, as populações P_{i1}, P_{i2}, P_{i4}, P_{i5} e P_{i6} para 'RB928064', apresentaram menor impacto sobre a área foliar das plantas de cana-de-açúcar.

Com relação aos índices de clorofila *a*, *b* e total, não houveram diferenças significativas entre os genótipos estudados nos diferentes tratamentos com plantas inoculadas ou não com as diferentes populações de *M. incognita* (Tabela 17). No entanto, quando analisados os dados, dentro de cada genótipo, observaram-se diferenças nos índices de clorofila entre plantas inoculadas e não inoculadas com o nematoide, cujas populações, de uma maneira geral, não diferiram entre si ($p > 0,05$).

Em relação a interferência do *M. incognita* no FDN e FDA (Tabela 18), verificou-se que as testemunhas não inoculadas, apresentaram os menores valores comparativamente aos demais tratamentos onde as plantas foram inoculadas com as diferentes populações do nematoide. Além disso, tanto para °Brix como para FDN e FDA, as respostas obtidas, dentro de cada população do nematoide ou testemunha, nos dois experimentos, foram semelhantes ($p > 0,05$), em ambos os genótipos de cana-de-açúcar testados.

Quanto aos teores de lignina, celulose e hemicelulose (Tabela 19) verificou-se que não houve diferenças entre os genótipos estudados quando analisadas as interações dentro de cada população. Porém, na avaliação da interferência do nematoide-das-galhas, dentro de cada genótipo, percebeu-se que em todos tratamentos cujas plantas foram obtidos os maiores valores para as referidas variáveis comparativamente a testemunha, não houveram diferenças significativas entre as populações de *M. incognita*.

Tabela 14 - Número de galhas nas raízes, número de nematoides (ovos + J₂) por grama de raiz e fator de reprodução de *Meloidogyne incognita* em dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de *M. incognita*.

Populações	Número de Galhas			
	Experimento 1		Experimento 2	
	RB867515 ^a	RB928064 ^b	RB867515 ^a	RB928064 ^b
P _i 1	6339 A a*	4230 C b	3149 B a	2458 A b
P _i 2	5432 B a	3935 C b	3123 B a	2310 A b
P _i 3	7436 A a	6762 A b	3763 A a	2830 A b
P _i 4	6622 A a	5570 B b	3684 A a	2901 A b
P _i 5	4942 B a	4078 C b	3555 A a	2698 A b
P _i 6	4908 B a	3021 D b	2920 B a	2531 A b
CV (%)	16,38		23,41	
Número de nematoides (ovos + J ₂) por grama de raiz				
P _i 1	1306 C a	1114 B b	1367 C a	1179 B b
P _i 2	1392 C a	972 B b	1350 C a	997 B b
P _i 3	3806 A a	2373 A b	3529 A a	2471 A b
P _i 4	2377 B a	1428 B b	2264 B a	1098 B b
P _i 5	1856 B a	1088 B b	1979 B a	913 B b
P _i 6	1926 B a	1168 B b	1915 B a	1318 B b
CV (%)	25,05		21,88	
Fator de Reprodução				
P _i 1	53 B a	47 B a	45 B a	40 B b
P _i 2	58 B a	35 D b	36 B a	27 C b
P _i 3	94 A a	68 A b	71 A a	55 A b
P _i 4	65 B a	43 C b	49 B a	33 C b
P _i 5	54 B a	30 D b	41 B a	23 D b
P _i 6	56 B a	39 D b	43 B a	30 C b
CV (%)	22,08		20,9	

* Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%; CV = Coeficiente de Variação. P_i1 - Santo Antônio da Patrulha (Amostra SAP01/Mi17): *M. incognita* Est. 2; P_i2 - Maquine (Amostra 11M/Mi18): *M. incognita* Est. I2; P_i3 - São Luiz Gonzaga (Amostra 119SLG/Mi22): *M. incognita* Est. I2; P_i4 - Frederico Westphalen (Amostra (9FW/Mi20): *M. incognita* Est. I2; P_i5 - Jaboticaba (Amostra 83J/Mi23): *M. incognita* Est. I1; P_i6 - Aratiba (Amostra 121A /Mi24): *M. incognita* Est. I1. a) genótipo mais suscetível; b) genótipo menos suscetível.

Tabela 15 - Massa fresca do sistema radicular, massa fresca da parte aérea e altura de plantas em de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de *Meloidogyne incognita*.

Populações	Massa fresca do sistema radicular (g)			
	Experimento 1		Experimento 2	
	RB867515 ^a	RB928064 ^b	RB867515 ^a	RB928064 ^b
P _i 0	440,7 A b*	497,5 A a	318,5 A b	389,8 A a
P _i 1	194,9 B b	218,3 B a	144,6 B b	169,7 B a
P _i 2	145,6 B b	180,0 B a	113,3 B b	135,4 B a
P _i 3	123,5 B b	143,3 B a	90,6 B b	111,3 B a
P _i 4	126,1 B b	150,6 B a	108,2 B b	150,3 B a
P _i 5	145,5 B b	169,0 B a	103,6 B b	125,9 B a
P _i 6	145,4 B b	166,9 B a	112,3 B b	123,8 B a
CV (%)	18,46		24,19	
Massa fresca da parte aérea (g)				
P _i 0	455 A b	562 A a	382 A b	497 A a
P _i 1	161 B b	193 B a	117 B b	138 B a
P _i 2	154 B b	179 B a	112 B b	136 B a
P _i 3	140 B b	155 B a	109 B b	121 B a
P _i 4	145 B b	170 B a	121 B b	149 B a
P _i 5	142 B b	176 B a	112 B b	153 B a
P _i 6	151 B b	174 B a	120 B b	141 B a
CV (%)	16,39		16,9	
Altura de plantas (cm)				
P _i 0	247,5 A a	221,7 A b	162,5 A b	180,5 A a
P _i 1	159,6 B a	146,7 B b	81,3 B b	122,3 B a
P _i 2	155,5 B a	131,3 C b	95,3 B b	112,1 B a
P _i 3	138,3 B a	127,3 C b	80,5 B b	105,3 B a
P _i 4	143,3 B a	131,8 B b	95,8 B b	119,6 B a
P _i 5	165,0 B a	151,7 B b	95,2 B b	113,0 B a
P _i 6	160,5 B a	151,7 B b	83,0 B b	112,0 B a
CV (%)	19,86		15,72	

*Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%; CV = Coeficiente de Variação. P_i0 – Testemunha sem nematoide; P_i1 - Santo Antônio da Patrulha (Amostra SAP01/Mi17): *M. incognita* Est. 2; P_i2 - Maquine (Amostra 11M/Mi18): *M. incognita* Est. I2; P_i3 – São Luiz Gonzaga (Amostra 119SLG/Mi22): *M. incognita* Est. I2; P_i4- Frederico Westphalen (Amostra (9FW/Mi20): *M. incognita* Est. I2; P_i5 - Jaboticaba (Amostra 83J/Mi23): *M. incognita* Est. I1; P_i6 - Aratiba (Amostra 121A /Mi24): *M. incognita* Est. I1. a) genótipo mais suscetível; b) genótipo menos suscetível.

Tabela 16 - Número de perfilho, diâmetro do colmo e área foliar de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de *Meloidogyne incognita*.

Populações	Número de perfilho			
	Experimento 1		Experimento 2	
	RB867515 ^a	RB928064 ^b	RB867515 ^a	RB928064 ^b
P _{i0}	2,2 A*	2,8 A	3,3 A	2,2 A
P _{i1}	0,8 B	1,2 B	1,3 B	1,5 B
P _{i2}	1,2 B	1,2 B	1,8 B	1,0 B
P _{i3}	0,5 B	0,9 B	1,0 B	0,8 B
P _{i4}	1,2 B	1,0 B	1,0 B	1,2 B
P _{i5}	0,8 B	1,7 B	1,2 B	1,6 B
P _{i6}	0,7 B	1,5 B	1,2 B	1,0 B
CV (%)	22,71	20,54	18,75	19,04
Diâmetro do colmo (mm)				
P _{i0}	32,8 A a	30,6 A b	28,5 A b	38,0 A a
P _{i1}	23,3 B a	20,8 B b	12,4 B b	15,9 B a
P _{i2}	23,3 B a	21,6 B b	11,7 B b	15,8 B a
P _{i3}	22,2 B a	18,8 B b	11,3 B b	13,0 B a
P _{i4}	23,7 B a	20,9 B b	14,7 B b	18,6 B a
P _{i5}	22,4 B a	20,2 B b	13,6 B b	18,0 B a
P _{i6}	22,7 B a	19,8 B b	12,8 B b	14,8 B a
CV (%)	14,91		12,81	
Área foliar (cm ² planta ⁻¹)				
P _{i0}	362 A b	541 A a	324 A b	477 A a
P _{i1}	152 C b	247 B a	143 C b	225 B a
P _{i2}	207 B b	295 B a	190 B b	266 B a
P _{i3}	89 D b	194 C a	88 D b	179 C a
P _{i4}	150 C b	247 B a	141 C b	224 B a
P _{i5}	212 B b	286 B a	194 B b	258 B a
P _{i6}	222 B b	266 B a	203 B b	241 B a
CV (%)	19,64		19,12	

*Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%; CV = Coeficiente de Variação. P_{i0} – Testemunha sem nematoide; P_{i1} - Santo Antônio da Patrulha (Amostra SAP01/Mi17): *M. incognita* Est. 2; P_{i2} - Maquine (Amostra 11M/Mi18): *M. incognita* Est. I2; P_{i3} – São Luiz Gonzaga (Amostra 119SLG/Mi22): *M. incognita* Est. I2; P_{i4}- Frederico Westphalen (Amostra (9FW/Mi20): *M. incognita* Est. I2; P_{i5} - Jaboticaba (Amostra 83J/Mi23): *M. incognita* Est. I1; P_{i6} - Aratiba (Amostra 121A /Mi24): *M. incognita* Est. I1. a) genótipo mais suscetível; b) genótipo menos suscetível.

Tabela 17 – Índice de clorofila *a*, *b* e total de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de *Meloidogyne incognita*.

Populações	Clorofila <i>a</i>			
	Experimento 1		Experimento 2	
	RB867515 ^a	RB928064 ^b	RB867515 ^a	RB928064 ^b
P _i 0	368 A*	381 A	387 A	357 A
P _i 1	251 B	235 B	216 B	298 B
P _i 2	249 B	236 B	269 B	259 B
P _i 3	245 B	227 B	248 B	247 B
P _i 4	242 B	261 B	238 B	289 B
P _i 5	271 B	233 B	236 B	294 B
P _i 6	263 B	230 B	242 B	266 B
CV (%)	21,74	24,81	20,2	24,51
Clorofila <i>b</i>				
P _j 0	164 A	170 A	183 A	169 A
P _j 1	49 B	28 C	60 B	101 B
P _j 2	65 B	57 B	87 B	76 B
P _j 3	46 B	53 B	73 B	80 B
P _j 4	56 B	68 B	78 B	92 B
P _j 5	69 B	39 C	66 B	95 B
P _j 6	50 B	38 C	68 B	85 B
CV (%)	22,3	20,35	26,25	25,66
Clorofila Total				
P _i 0	532 A	551 A	569 A	526 A
P _i 1	300 B	318 B	276 B	399 B
P _i 2	314 B	294 B	356 B	335 B
P _i 3	291 B	263 B	321 B	327 B
P _i 4	297 B	328 B	316 B	382 B
P _i 5	340 B	272 B	302 B	389 B
P _i 6	313 B	268 B	311 B	351 B
CV (%)	18,74	15,76	21,14	25,95

*Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%; CV = Coeficiente de Variação. P_i0 – Testemunha sem nematoide; P_i1 - Santo Antônio da Patrulha (Amostra SAP01/Mi17): *M. incognita* Est. 2; P_i2 - Maquine (Amostra 11M/Mi18): *M. incognita* Est. I2; P_i3 – São Luiz Gonzaga (Amostra 119SLG/Mi22): *M. incognita* Est. I2; P_i4- Frederico Westphalen (Amostra (9FW/Mi20): *M. incognita* Est. I2; P_i5 - Jaboticaba (Amostra 83J/Mi23): *M. incognita* Est. I1; P_i6 - Aratiba (Amostra 121A /Mi24): *M. incognita* Est. I1. a) genótipo mais suscetível; b) genótipo menos suscetível.

Tabela 18 – Teor fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de *Meloidogyne incognita*.

Populações	Fibra em detergente neutro (FDN)			
	Experimento 1		Experimento 2	
	RB867515 ^a	RB928064 ^b	RB867515 ^a	RB928064 ^b
P _i 0	56,8 B	60,5 B	56,3 B	59,6 B
P _i 1	76,6 A	80,7 A	84,2 A	87,3 A
P _i 2	84,6 A	86,0 A	83,8 A	89,3 A
P _i 3	88,9 A	85,5 A	88,7 A	90,3 A
P _i 4	86,8 A	81,0 A	85,6 A	93,2 A
P _i 5	79,8 A	85,0 A	88,8 A	95,2 A
P _i 6	90,6 A	89,5 A	90,1 A	95,5 A
CV (%)	18,68	19,79	19,61	24,05
Fibra em detergente ácido (FDA)				
P _i 0	30,9 B	35,5 B	27,5 B	31,7 B
P _i 1	41,5 A	49,1 A	38 A	41,9 A
P _i 2	44,6 A	46,3 A	39,9 A	42,7 A
P _i 3	51,2 A	50,3 A	45,8 A	43,6 A
P _i 4	50,6 A	48,4 A	45,3 A	44,1 A
P _i 5	46,1 A	49,2 A	41,4 A	44,3 A
P _i 6	48,7 A	47,6 A	43,5 A	45,3 A
CV (%)	19,45	18,36	18,88	21,25

*Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%; CV = Coeficiente de Variação. P_i0 – Testemunha sem nematoide; P_i1 - Santo Antônio da Patrulha (Amostra SAP01/Mi17): *M. incognita* Est. 2; P_i2 - Maquine (Amostra 11M/Mi18): *M. incognita* Est. I2; P_i3 – São Luiz Gonzaga (Amostra 119SLG/Mi22): *M. incognita* Est. I2; P_i4- Frederico Westphalen (Amostra (9FW/Mi20): *M. incognita* Est. I2; P_i5 - Jaboticaba (Amostra 83J/Mi23): *M. incognita* Est. I1; P_i6 - Aratiba (Amostra 121A /Mi24): *M. incognita* Est. I1. a) genótipo mais suscetível; b) genótipo menos suscetível.

Tabela 19 – Teor de lignina (%), celulose (%) e hemicelulose (%) da parte aérea de dois genótipos de cana-de-açúcar infectadas com seis populações de *Meloidogyne incognita*.

Populações	Lignina (%)			
	Experimento 1		Experimento 2	
	RB867515 ^a	RB928064 ^b	RB867515 ^a	RB928064 ^b
P _i 0	3,0 B*	2,8 B	3,2 B	3,5 B
P _i 1	5,2 A	6,7 A	5,7 A	7,2 A
P _i 2	4,8 A	6,7 A	5,3 A	7,2 A
P _i 3	7,0 A	8,1 A	6,5 A	8,6 A
P _i 4	6,2 A	8,0 A	6,7 A	8,5 A
P _i 5	5,7 A	7,7 A	6,2 A	8,2 A
P _i 6	5,0 A	6,2 A	5,5 A	6,7 A
CV (%)	24,26	26,66	23,19	24,5
Celulose (%)				
P _i 0	27,9 B	32,5 B	24,3 B	28,2 B
P _i 1	36,4 A	42,4 A	32,4 A	36,9 A
P _i 2	39,8 A	39,6 A	34,6 A	34,7 A
P _i 3	45,2 A	42,1 A	39,3 A	36,6 A
P _i 4	44,4 A	40,4 A	38,6 A	35,2 A
P _i 5	40,4 A	41,5 A	35,2 A	36,1 A
P _i 6	43,7 A	41,4 A	38,0 A	36,0 A
CV (%)	19,87	18,74	26,74	24,89
Hemicelulose (%)				
P _i 0	22,9 B	25,1 B	28,8 B	27,8 B
P _i 1	35,1 A	41,5 A	39,2 A	46,2 A
P _i 2	34,0 A	39,7 A	43,9 A	45,4 A
P _i 3	39,6 A	45,2 A	42,9 A	50,3 A
P _i 4	36,3 A	44,6 A	40,3 A	49,6 A
P _i 5	33,7 A	45,8 A	37,4 A	50,9 A
P _i 6	42,0 A	41,8 A	46,7 A	46,6 A
CV (%)	22,7	21,81	23,59	26,8

*Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%; CV = Coeficiente de Variação. P_i0 – Testemunha sem nematoide; P_i1 - Santo Antônio da Patrulha (Amostra SAP01/Mi17): *M. incognita* Est. 2; P_i2 - Maquine (Amostra 11M/Mi18): *M. incognita* Est. I2; P_i3 – São Luiz Gonzaga (Amostra 119SLG/Mi22): *M. incognita* Est. I2; P_i4- Frederico Westphalen (Amostra (9FW/Mi20): *M. incognita* Est. I2; P_i5 - Jaboticaba (Amostra 83J/Mi23): *M. incognita* Est. I1; P_i6 - Aratiba (Amostra 121A /Mi24): *M. incognita* Est. I1. a) genótipo mais suscetível; b) genótipo menos suscetível.

No presente estudo foi verificado que independentemente das populações de *M. javanica* e *M. incognita*, houve redução significativa no desenvolvimento das plantas

de cana-de-açúcar parasitadas por ambas as espécies, sendo esses efeitos, também notados pelas correlações negativas da reprodução e número de galhas de ambas as espécies de *Meloidogyne* com a massa fresca da parte aérea ($R=-0,60$ a $-0,89$), massa fresca da raiz ($R=-0,60$ a $-0,89$), área foliar ($R=-0,77$ a $-0,91$), número de perfilhos ($R=-0,62$ a $-0,82$), clorofila ($R=-0,75$ a $-0,90$), dentre outras características das plantas inoculadas. No entanto, pela análise dos dados, existem populações mais agressivas que outras considerando-se aquelas variáveis relacionadas ao patógeno (danos e reprodução), a parte da planta afetada (massa fresca da parte aérea e raízes, altura, área foliar, clorofila total) ou outras características ligadas à sua constituição como a lignina. Esses danos ocorrem por haver comprometimento na absorção de água e nutrientes das raízes das plantas infectadas pelo nematoide-das-galhas, o que afeta, conseqüentemente, seu desenvolvimento vegetativo conforme já relatado em outros patossistemas (SHARMA et al., 1993; ASMUS; FERRAZ, 2001). Durante o processo infectivo das raízes pelos nematoides-sedentários, ocorre a demanda de energia por parte do patógeno para o seu crescimento e sua reprodução. Para os nematoides-de-galhas, que modificam as células que os alimentarão, ocorre a hiperplasia e hipertrofia das células nutridoras e a captação de nutrientes da planta, havendo uma demanda de carbono proveniente da planta (MOENS et al., 2009). Neste sentido, e levando em consideração a divisão espacial entre fonte e dreno, os nematoides assumem característica de dreno, ou seja, há transporte de nutrientes orgânicos da parte aérea para um local distante, as raízes, que nutrirão os nematoides (CARNEIRO; MAZAFFERA, 2001; MOENS et al., 2009).

Os menores valores apresentados para massa fresca da parte aérea e do sistema radicular das plantas inoculadas indicam que o parasitismo do nematoide-das-galhas acarreta diminuição do crescimento das plantas, o que repercute diretamente nas características produtivas da cana-de-açúcar, diminuindo altura, área foliar das plantas, índices de clorofila e, verificado no presente estudo, que, por conseqüência, no final do ciclo da cultura, irá influenciar na sua produtividade, conforme evidenciado pelas correlações negativas acima relatadas. A interferência negativa de *Meloidogyne* spp. sobre o desenvolvimento das plantas de cana-de-açúcar também foi observada por Dinardo-Miranda (2005). O referido autor relata que em conseqüência do ataque deste nematoide, houve redução da quantidade de raízes, menor absorção de água e nutrientes e, conseqüentemente, as plantas se desenvolveram menos e ficaram amareladas.

Em estudo semelhante, conduzido no patossistema cana-de-açúcar x *Pratylenchus* spp., Barbosa et al. (2013) avaliaram a agressividade de populações do nematoide-das-lesões-radiculares (*P. brachyurus* e *P. zaeae*) na variedade CTC 2. Os autores verificaram que para as variáveis estudadas (perfilhamento, massa fresca, diâmetro do colmo e altura de planta), não houveram diferenças significativas quando as populações foram comparadas entre si, porém, todas elas afetaram negativamente o desenvolvimento das plantas quando comparadas à testemunha não inoculada. Dinardo-Miranda (1994), estudando o comportamento de plantas de cana-de-açúcar inoculadas com *P. zaeae* e *P. brachyurus*, avaliou o efeito dessas espécies sobre o desenvolvimento das plantas, verificou poucas diferenças significativas entre os valores das diferentes variáveis (massa fresca de raiz e da parte aérea) entre as testemunhas e aquelas plantas inoculadas com uma ou outra espécie de nematoide. Em outro estudo, o mesmo autor (DINARDO-MIRANDA,1999), avaliando o comportamento de seis genótipos de cana-de-açúcar ao parasitismo de *P. zaeae*, constatou redução na produtividade, deixando evidente as perdas causadas por esse nematoide aos canaviais infestados.

A redução da área foliar da cana-de-açúcar verificada no presente estudo, para ambas as espécies do nematoide-das-galhas, pode estar relacionada com o seu menor desenvolvimento vegetativo. Pois a folha é a estrutura responsável pela produção da maior parte dos carboidratos essenciais ao crescimento e desenvolvimento dos vegetais (HERMANN; CÂMARA 1999). Benincasa (1988) relata que as folhas são os órgãos responsáveis por 90% da massa seca acumulada nas plantas, resultante da atividade fotossintética. Assim, fatores como temperaturas elevadas, interação com patógenos e períodos de estresse hídrico causam a diminuição da área foliar, pois aceleram o processo de senescência das folhas verdes (INMAM-BAMBER, 2004). Neste sentido, Wahid (2004) acrescenta que em condições de estresses bióticos com patógenos, genótipos mais suscetíveis seriam mais prejudicados por reduzirem sua massa de folhas e sua área foliar. Além desses fatores, a deficiência de nitrogênio também pode reduzir a capacidade fotossintética (MEINZER; ZHU, 1998).

A expressiva redução da área foliar em função da infecção por *M. javanica* já foi observado em soja (SHARMA; RODRÍGUEZ, 1982; ASMUS; FERRAZ, 2001) e entre *M. incognita* e tomateiro (FORTNUM et al., 1991), dentre várias outras interações, envolvendo espécies de nematoides em diferentes culturas (POSTUKA et

al., 1986; NAGESH; DHAWAN,1988; FASAN; HAVERKORT, 1991; KAUSHAL; MADAVI, 1992; SCHANS; ARNTZEN, 1991; SHARMA et al., 1993). Os nematoides-de-galhas utilizam rapidamente o carbono fixado nas folhas e consomem uma significativa parte do total de energia produzida pelas plantas (MELAKEBERHAN et al., 1990; CARNEIRO et al., 1999). O grande volume e o elevado conteúdo protéico do corpo das fêmeas de *Meloidogyne* spp. associados à alta capacidade de produção de ovos e às modificações que causam na organização e fisiologia das raízes, alteram o padrão energético das plantas, comprometendo a capacidade das plantas de manter e expandir certas estruturas, como as folhas (BIRD, 1974; ASMUS; FERRAZ, 2001).

A redução significativa dos índices de clorofila das plantas de cana-de-açúcar inoculadas com *Meloidogyne* spp. se deve, provavelmente, à falta de translocação de nutrientes essenciais à constituição da molécula de clorofila, que têm sua absorção afetada pelo parasitismo de nematoides (KOENNING; BARKER, 1995; GONÇALVES et al., 1995). O teor de clorofila permite avaliar o índice de intensidade da cor verde em várias espécies de plantas (NASCIMENTO JUNIOR, 2012), sendo que a perda de pigmento é um indicador visível de eventos como estresse ou deficiência hídrica em plantas. De acordo com Asmus e Ferraz (2001), os fitonematoides podem causar estresse hídrico em plantas a ponto de intervir no teor de clorofila, o que pode explicar os resultados da presente pesquisa. Em trabalho com *Pratylenchus thornei* e *Helicotylenchus multicinctus*, em arroz, os autores observaram que estes nematoides podem provocar reduções no conteúdo de clorofila (DUTTA et al., 1990). Menores teores de clorofila presente nas folhas das plantas induzem a redução da atividade fotossintética acarretando em consequência uma redução de foto-assimilados, como pode-se verificar para a cultura do tomate, arroz, soja, batata e de plantas medicinais quando atacadas por fitonematoides (LOVEYS; BIRD, 1973; WALLACE, 1974; BIRD, 1974; BHUDANANANDA; PRASAD, 1989; BALOGUN; BABATOLA, 1990; SCHANS; ARNTZEN, 1991; MELAKEBERHAN, 1999).

Os níveis de fibra em detergente neutro (FDN) e em detergente ácido (FDA) detectados nesse estudo dão indícios da interferência de *Meloidogyne* spp. uma vez que ambos estão ligados diretamente a digestibilidade das fibras da cana-de-açúcar por animais ruminantes, uma vez que índices mais baixos destas variáveis proporcionam um melhor aproveitamento pelo animal (LEMÕES et al., 2016). Os teores de fibras estão intimamente ligados com os teores de lignina, celulose e hemicelulose; quanto maiores estes valores, maiores serão os valores de FDN e FDA

(LEMÕES et al., 2016). Outro ponto importante que se deve levar em consideração é a variação da composição nutricional da cana-de-açúcar em função da idade da planta. No presente trabalho, as plantas foram avaliadas aos 120 dias após a inoculação dos nematoides. De acordo com Anjos et al. (2008), quanto mais madura estiver a cana-de-açúcar, maior o seu teor de açúcar e menor o seu teor de fibra, sendo maior o seu valor nutritivo para alimentação animal. Nesse sentido, avaliando-se o material inoculado aos 300 dias (primeira colheita), diferenças menos acentuadas podem ser detectadas, o que demanda a condução de estudos adicionais para elucidar tal questão.

Outro fator importante que pode estar ligado ao aumento dos teores lignina, celulose e hemicelulose, na parte aérea de cana-de-açúcar, pode estar ligado a uma resposta de resistência das plantas parasitadas pelas duas espécies de *Meloidogyne*. Como por exemplo, tomateiros atacados por *Meloidogyne* spp. apresentaram um maior acúmulo de lignina nas raízes das plantas (KUMAR; KHAANA, 2006). Muitas vezes, na infecção de células vegetais por patógenos, ocorre um acúmulo de lignina, celulose e hemicelulose, no ponto de entrada, cuja substância mais encontrada é a primeira, a qual pode ser depositada longe do ponto inicial onde ocorreu a infecção do patógeno (SOMSSICH; HAHBROCK, 1998; BARROS et al., 2010). A lignina parece aumentar a resistência da parede celular a enzimas digestivas dos agressores (patógenos). Isso pode explicar o acúmulo acentuado desta fração da fibra na parte aérea das plantas infectadas por ambas espécies do nematoide-das-galhas, conforme observado no presente estudo.

De uma forma geral, as interações encontradas neste estudo reforçam a importância de condução de novos trabalhos relacionados à agressividade de nematoides parasita de plantas em espécies vegetais para o desenvolvimento de pesquisas voltadas a resistência genética de cultivares associados ou não a outras estratégias de manejo. Os resultados desta pesquisa corroboram com aqueles observados por Bisognin (2017) estudando a agressividade de populações de *P. zae* e *P. brachyurus* em cana-de-açúcar. Neste trabalho o autor verificou que além de ambas espécies do nematoide-das-lesões influenciaram negativamente o desenvolvimento das plantas, a maior ou menor intensidade sobre tais foi relacionada a agressividade das populações. Lima-Medina et al. (2017) estudando o patossistema batata x *M. javanica*, evidenciaram que existe interação entre cultivares e populações da mesma espécie, e, por fim, os autores relatam a importância de se selecionar

populações mais agressivas para estudos de resistência genética. Da mesma forma, Somavilla (2008), avaliando a relação entre resistência de cultivares de videira e populações de *M. ethiopica*, observou que existem populações mais agressivas que outras e que cultivares de *Vitis labrusca* foram mais suscetíveis. Mattos et al. (2016) estudando a agressividade de diferentes populações de *M. javanica* e *M. morocciensis* em genótipos de soja, provenientes de áreas com vegetação nativa e de soja, observaram diferentes níveis de agressividade entre as populações e que aquelas mais agressivas foram provenientes da mesma cultura testada. Da mesma forma, Brum (2017) estudando a agressividade de populações de *M. graminicola* em cinco cultivares de arroz, verificou interação significativa entre as populações testadas e genótipos quanto à severidade dos danos na cultura e ao fator de reprodução do nematoide. Desta forma, tais trabalhos relatados demonstram a importância de se utilizar populações agressivas em *screenings* para seleção de materiais.

Embora a população P_{j3} de *M. javanica* tenha sido a mais agressiva nos dois genótipos de cana-de-açúcar testados, não foi possível relacionar as diferenças encontradas com respectivos fenótipos esterásticos e os agrupamentos genéticos (Capítulo 1), uma vez que a população P_{j3} (Amostra 134P /Mj1) com fenótipo de esterase J3, se agrupou próximo as demais populações de *M. javanica* com outros fenótipos. O mesmo pode ser observado para *M. incognita*, sendo a população P_{i3} (Amostra 119SLG/Mi22), foi a mais agressiva em vários parâmetros avaliados, sendo esta população muito próxima genética e molecularmente das demais populações, independentemente do fenótipo de esterase. A baixa relação entre estudos de variabilidade genética intraespecífica de populações de *Meloidogyne* spp. e agressividade, tem sido observada por outros autores. Oliveira et al. (2011) verificaram que populações de *M. incognita* Est.Mdh I1N1 raça 2, comportaram-se de forma diferenciada em cultivares de café com diferentes níveis de resistência. Xu (2002) estudando três populações de *M. konaensis* com diferentes perfis de malato desidrogenase (MKF1, MKI1 e MKI1-F1) também observou comportamento diferenciado na cultura do café, tomate e pepino. Em outro trabalho, Polharel et al. (2007), avaliando diferentes populações de *M. graminicola* em cultivares de arroz, não verificou correlação entre a região *internal transcribed spacer* (ITS) das populações do nematoide avaliadas com a agressividade nas cultivares. Populações de *M. incognita* Est. S2 foram pouco agressivas a diferentes cultivares de cafeeiro (MUNIZ et al., 2009). Em trabalhos conduzidos por Santos et al. (2012), essas mesmas

populações, em análise filogenética, se agruparam parcialmente separadas das demais populações (I1 e I2), mostrando haver baixa correlação entre variabilidade genética, fenótipos de enzima e filogenia das populações.

Considerando-se os resultados obtidos nesse estudo, verificou-se que as variáveis número de galhas, fator de reprodução e desenvolvimento de plantas são importantes para determinar os danos ocasionados por diferentes populações de *M. javanica* e *M. incognita* em genótipos de cana-de-açúcar. Trabalhos nessa linha são importantes, uma vez que ainda não se dispõe de materiais resistentes de *Saccharum* spp. para ambas as espécies visando a utilização futura desses materiais no campo ou como progenitores. Desta forma, investigações futuras quanto a agressividade desse patógeno e suas consequências nas plantas podem contribuir na adoção de estratégias de manejo do nematoide-das-galhas na cultura da cana-de-açúcar.

3.4 Conclusões

Existe interação entre genótipos de cana-de-açúcar e populações de *M. javanica* e *M. incognita* onde algumas populações são mais agressivas.

Meloidogyne incognita e *M. javanica* afetam negativamente o desenvolvimento da cana-de-açúcar influenciando as diferentes variáveis de crescimento, digestibilidade de fibras, sólidos solúveis e componentes da parede celular da parte área.

4 CAPÍTULO III - REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR A *Meloidogyne javanica* E *Meloidogyne incognita* E PATOGENICIDADE DE OUTRAS ESPÉCIES DO NEMATOIDE-DAS-GALHAS NA CULTURA

4.1 Introdução

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. L híbrido) é uma das culturas mais importantes no cenário socioeconômico brasileiro e internacional. A produção mundial de cana-de-açúcar é de aproximadamente de 2,5 bilhões de toneladas anuais. No Brasil, a produção gira em torno de 658 milhões de toneladas em mais de 9 milhões de hectares cultivados, sendo o país, responsável por 25% da produção cuja matéria-prima é destinada à produção de açúcar, álcool, aguardente e para a alimentação animal (CONAB, 2017).

Apesar do crescente aumento na área e produtividade da cana-de-açúcar nas últimas safras, diversos fatores têm sido limitantes à produção, dentre esses, os fitonematoides. Diferentes espécies desses patógenos afetam negativamente a cultura em praticamente todas as regiões do mundo onde ela é cultivada. Conforme Cadet e Spaul (2005), mais de 300 espécies de fitonematoides, distribuídas em 48 gêneros, são associadas ao cultivo de cana-de-açúcar, cujas perdas médias são estimadas em 20%. No entanto, os prejuízos podem variar em função das espécies envolvidas, seus níveis populacionais, da suscetibilidade da variedade, além do período de cultivo do ano (CHAVES et al., 2009).

No Brasil, os nematoides-das-galhas (*Meloidogyne* spp.) e das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.) são os mais frequentes e estão relacionados a danos na cultura da cana-de-açúcar (DINARDO-MIRANDA et al., 2008; SEVERINO et al., 2010; BELLÉ et al., 2014). Na região nordeste e em São Paulo foi verificada a ocorrência *M. javanica* e *M. incognita* em lavouras cana-de-açúcar (DINARDO-MIRANDA et al., 2003a; DINARDO-MIRANDA, 2008; NORONHA et al., 2017). Já na região Sul, em levantamento nematológico realizado no Paraná, Severino et al. (2008) verificaram que as espécies do nematoides-das-galhas mais frequentes foram

Meloidogyne javanica seguido de *M. incognita*. Em trabalho recente, no Rio Grande do Sul, Bellé (2014) também observou predominância de *M. javanica*.

A importância dos nematoides-das-galhas para a cultura da cana-de-açúcar pode ser especialmente verificada com a diminuição na produtividade em função das dificuldades de manejo destes patógenos (BARROS et al., 2005; DINARDO-MIRANDA et al., 2008). Vários métodos de controle visando diminuir as populações de fitonematoídeos na cultura, a níveis abaixo do limiar de dano econômico, têm sido estudados. Dentre esses, citam-se o uso de nematicidas, a rotação de culturas, o revolvimento do solo, a incorporação de matéria orgânica e o uso de genótipos resistentes ou tolerantes (BARROS et al., 2000). De uma forma geral, a resistência genética é considerada uma das práticas de controle mais desejadas por ser economicamente viável, acessível aos produtores e não apresentar riscos à saúde humana e ao meio ambiente. Entretanto, para cultura da cana-de-açúcar, não há variedades com resistência aos nematoides-das-galhas disponíveis no mercado brasileiro (DIAS-ARIEIRA et al., 2010; SANTOS et al., 2012).

Nos últimos anos, a expansão das áreas de cultivo com cana-de-açúcar tem evidenciado a exposição da cultura a outras espécies de *Meloidogyne*, como *M. ethiopica*, *M. luci*, *M. hapla*, *M. arenaria* (Est. A2 e A1) (BELLÉ, 2014), bem como *M. morocciensis* e *M. enterolobii*, que foram detectadas no presente estudo. Estas espécies têm causado preocupação por serem extremamente agressivas em culturas como a goiaba, videira, kiwi, soja, batata, berinjela e fumo (CARNEIRO et al., 2003; CARNEIRO; et al., 2006; ALMEIDA et al., 2011; GOMES et al., 2008; LIMA-MEDINA et al., 2014). Na literatura há poucos estudos ligados à patogenicidade destas espécies à cultura da cana-de-açúcar. Considerando-se a liberação de genótipos novos para plantio em áreas comerciais, especialmente para o estado do Rio Grande do Sul e a ocorrência de espécies até então não detectadas ou pouco frequentes em cana-de-açúcar, informações sobre a resistência tanto das variedades em uso como novos materiais aos nematoides-das-galhas, são importantes para o manejo da cultura.

Desta forma, teve-se por objetivo no presente estudo: a) avaliar a reação de genótipos de cana-de-açúcar a *M. javanica* e *M. incognita*; b) estudar o impacto de *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria* sobre diferentes aspectos do desenvolvimento e composição da parte aérea da cana-de-açúcar; e, c) avaliar a patogenicidade de

espécies menos frequentes (*M. ethiopica*, *M. luci*, *M. hapla*, *M. arenaria*, *M. morocciensis* e *M. enterolobii*) na cultura.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Reação de genótipos de cana-de-açúcar a *Meloidogyne* spp. e prospecção dos danos causados pelo nematoide

Vinte e cinco genótipos de cana-de-açúcar (RB006970, RB006995, RB006996, RB008347, RB016916, RB036088, RB036152, RB72454, RB845210, RB867515, RB925268, RB92579, RB931003, RB946903, RB951541, RB965560, RB965902, RB966928, RB975932, RB98710, RB987935, RB988082, RB99368, RB996519, RB996527) adaptados às condições edafoclimáticas do Rio Grande do Sul e provenientes do programa de melhoramento da RIDESA (Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético), em parceria com a Embrapa Clima Temperado, foram avaliados quanto a reação a *Meloidogyne* spp., em casa de vegetação, no período de novembro de 2016 à março de 2017, sob condições controladas ($25 \pm 3^{\circ}\text{C}$). Para tanto, as plantas de cana-de-açúcar utilizadas nesse estudo foram produzidas de acordo com o sistema de mudas pré-brotadas (MPB) adaptado de Landell et al. (2013).

Populações puras de *M. javanica* (Est J3) (Amostra 134P/Mj1/Pj3) e de *M. incognita* (Est I2) (Amostra 119SLG/Mi22/ Pi3), as provenientes de cana-de-açúcar e mantidas em tomateiro 'Rutgers' (*Solanum lycopersicum* L), em vaso com solo esterilizado, em casa de vegetação ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$), foram utilizadas como inoculo. Periodicamente, ambas as espécies foram avaliadas quanto identidade através da caracterização bioquímica dos respectivos fenótipos de esterase pela técnica de eletroforese (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001) conforme capítulo 1. Plantas individuais de cana-de-açúcar dos diferentes genótipos, mantidas em vasos de 3500 cm³ de solo esterilizado (mistura de vermiculita e solo na proporção 1:3), foram inoculadas com uma suspensão de 5.000 ovos + juvenis de segundo estágio (J₂) (população inicial) de cada uma das espécies de *Meloidogyne* em estudo (HUSSEY; BARKER, 1973; BONETTI; FERRAZ 1981), separadamente. A inoculação foi realizada em três orifícios de quatro cm de profundidade, ao redor de cada planta de cana-de-açúcar. Plantas não inoculadas e mantidas nas mesmas condições, foram adicionadas ao

estudo para comparação do desenvolvimento vegetativo. O ensaio seguiu o delineamento inteiramente atualizado em esquema fatorial com seis repetições.

Após 120 dias da inoculação, as raízes de cada planta foram separadas da parte aérea, lavadas e avaliadas quanto à massa fresca de parte aérea e da raiz (g), altura (comprimento/distância da base da planta até o colarinho (folha +1)) (cm), diâmetro do colmo (mm), número de perfilhos, área foliar (cm²) (HERMANN; CÂMARA, 1999) e número de galhas. A seguir, realizou-se a extração de ovos + J₂ das raízes de cada planta (população final) conforme metodologia citada, para quantificação de nematoides e determinação do fator de reprodução do nematoide (FR=população final/população inicial) (OOSTENBRINK, 1966) de cada espécie de *Meloidogyne*, em cada repetição.

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Para a variável número de galhas foi necessária a transformação [$\sqrt{(x+0,5)}$]. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), em esquema fatorial, sendo as médias de cada tratamento comparadas entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o software GENES (CRUZ, 2006). Adicionalmente, a reação dos genótipos de cana-de-açúcar foi classificada de acordo com os valores de FR de cada um dos nematoides testados, considerando-se como resistentes, aqueles cujo nematoide apresentou $FR < 1,00$ e suscetíveis, aqueles com $FR \geq 1,00$. Embora tenha sido aplicado conceito de Oostenbrink (1966), adicionalmente também se avaliou as diferenças entre os materiais genéticos, com base nos diferentes graus de suscetibilidade proposto por Trudgill (1991). Complementarmente, os valores das diferentes variáveis foram correlacionados entre si pela análise de correlação de Pearson.

4.2.2 Impacto de diferentes espécies *Meloidogyne* no desenvolvimento de plantas de cana-de-açúcar

O experimento foi conduzido no período de dezembro de 2016 a novembro de 2017, em telado, no Setor de Agroenergia da Embrapa Clima Temperado, utilizando-se para este estudo, o genótipo RB867515 por representar 27% da área cultivada no Brasil (BRAGA-JUNIOR et al., 2017), cujas mudas foram produzidas conforme descrito anteriormente.

Utilizou-se como inóculo, populações puras de *M. javanica* (Est J3/ Amostra 134P/Mj1/Pj3), *M. incognita* (Est I2/ Amostra 119SLG/Mi22/ Pj3) sendo estas as mais agressivas (capítulo 2) e *M. arenaria* (Est A2/ Amostra 160) mantidas e reproduzidas conforme detalhado anteriormente.

Plantas individuais de cana-de-açúcar 'RB867515', mantidas em vasos de 20 L com solo esterilizado (mistura de vermiculita + solo na proporção 1:3), foram inoculadas separadamente com uma suspensão de 5.000 ovos + juvenis de segundo estágio (J₂) de cada uma das espécies de *Meloidogyne* obtida conforme método de Hussey e Barker, (1973) modificado por Bonetti e Ferraz (1981). Plantas do mesmo genótipo não inoculadas, foram adicionadas ao estudo para comparação do desenvolvimento vegetativo. O ensaio seguiu o delineamento inteiramente casualidade com seis repetições.

Após 330 dias da inoculação, as raízes de cada planta foram separadas da parte aérea, avaliadas quanto à massa fresca da parte aérea e da raiz (g). Além disso, também foi realizada a mensuração da altura de plantas (cm), o diâmetro do colmo (cm), a medição da área foliar (cm²) (HERMANN; CÂMARA, 1999), e, do índice de clorofila foliar (ICF); massa fresca dos colmos, e, a contagem do número de perfilhos, internódios e do número de galhas nas raízes.

A seguir, realizou-se a extração de ovos + J₂ das raízes de cada planta (população final) conforme metodologia citada anteriormente para quantificação da população final de nematoides e determinação dos fatores de reprodução do nematoide (FR=população final/população inicial) (OOSTENBRINK, 1966) em cada repetição e também foi determinado o número de nematoides por grama de raízes. Na sequência, as amostras dos colmos de cana-de-açúcar de cada repetição, foram submetidas à prensagem a 250 kg cm² e o volume do caldo foi medido. Posteriormente, foi triturada e seca em estufa de circulação forçada (60° C por 96 horas) e depois moída e separada 50 g para análise de digestibilidade (FDN e FDA), celulose, hemicelulose e lignina através da espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) (modelo NIR FLEX N500, BÜCHI). Também foi determinado teor de sacarose aparente do caldo (POL) e açúcares redutores do caldo (AR) no NIR.

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Para a variável número de galhas foi necessária a transformação $[\sqrt{(x+0,5)}]$. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), sendo as médias de cada tratamento comparadas entre si pelo teste de de

Duncan a 5% de probabilidade de erro, utilizando-se o software GENES (CRUZ, 2006). Complementarmente, os valores das diferentes variáveis foram correlacionados entre si pela análise de correlação de Pearson.

4.2.3 Patogenicidade de *Meloidogyne* spp. em diferentes variedades de cana-de-açúcar

Foram realizados diferentes ensaios em casa de vegetação para avaliar a patogenicidade das diferentes espécies de *Meloidogyne* detectadas no presente estudo e em trabalho recente conduzido por Bellé (2014) em cana-de-açúcar. Para tanto, populações puras de seis diferentes espécies de *Meloidogyne*, foram utilizadas nesse estudo, conforme a tabela 20. A escolha da variedade foi em função da ocorrência do nematoide-das-galhas detectado no referido genótipo.

Tabela 20 - Espécies *Meloidogyne* e variedades de cana-de-açúcar usadas no teste de patogenicidade.

Espécie	Fenótipo de esterase	População/Localidade	Variedade
<i>M. arenaria</i>	A2	160 – Viamão/RS	RB966928
<i>M. arenaria</i>	A1	111 - Santo Ângelo/RS	RB867515
<i>M. enterolobii</i>	M2	141 – Maquiné/RS	RB935581
<i>M. ethiopica</i>	E3	25 – Caiçara/RS	RB72454
<i>M. hapla</i>	H1	19 - Vicente Dutra/RS	RB845057
<i>M. luci</i>	L3	154 - Caxias do Sul/RS	RB946903
<i>M. morocciensis</i>	A3	169- Santa Maria-RS	RB855156

As mudas das diferentes variedades de cana-de-açúcar foram obtidas pelo sistema de multiplicação de mudas pré-brotadas (MPB), adaptado de Landell et al. (2013) conforme já detalhado. Cada população de *Meloidogyne* foi multiplicada em plantas de tomate ‘Rutgers’ e mantidas em vaso contendo solo esterilizado, em casa de vegetação, sendo a pureza de cada uma verificada periodicamente, por eletroforese (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001).

Plantas individuais de cana-de-açúcar das diferentes variedades, mantidas em vasos com solo esterilizado, foram inoculadas com uma suspensão de 5.000 ovos + juvenis de segundo estágio (J2) de cada espécie de *Meloidogyne* obtida conforme método de Hussey e Barker, (1973) modificado por Bonetti e Ferraz (1981), utilizando-

se seis repetições para cada espécie testada. Plantas de cana-de-açúcar, das mesmas variedades, não inoculadas com o nematoide-das-galhas, foram utilizadas para avaliação do impacto do nematoide sobre o desenvolvimento vegetativo. O ensaio seguiu o delineamento inteiramente casualizado com seis repetições por tratamento.

Após 120 dias da inoculação, as raízes de cada planta foram separadas da parte aérea, lavadas e avaliadas quanto à massa fresca da parte aérea e do sistema radicular (g), altura de plantas (cm), diâmetro do colmo (mm), número de perfilho, área foliar (cm²) e o número de galhas por sistema radicular. A seguir, realizou-se a extração de ovos e J2 das raízes (HUSSEY; BARKER, 1973; BONETTI; FERRAZ, 1981) para quantificação da população final e posterior determinação do fator de reprodução (FR = população final/população inicial) de cada população de *Meloidogyne* (OOSTEMBRINK, 1966). Também foi estimado o número de nematoide por grama de raiz que é definido pela razão entre o número total de nematoides nas raízes e a massa fresca do sistema radicular.

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk; sendo a seguir, submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). Em caso de significância estatística, compararam-se os efeitos da inoculação pelo teste t ($p \leq 0,05$).

4.3 Resultados de discussão

4.3.1 Reação de genótipos de cana-de-açúcar a *Meloidogyne* spp. e prospecção dos danos causados pelo nematoide

Verificou-se interação significativa ($p \leq 0,05$) entre os fatores para a grande maioria das variáveis analisadas e relacionadas a danos e reprodução dos fitonematoides e àquelas associadas ao desenvolvimento das plantas de cana-de-açúcar avaliadas, para ambas as espécies de *Meloidogyne*.

Com relação aos danos no sistema radicular (Tabela 21), o genótipo que apresentou maior número de galhas para as duas espécies do nematoide-das-galhas (*M. incognita* e *M. javanica*) foi 'RB931003'. Já 'RB008347' e 'RB946903' foram aqueles onde se verificaram os menores valores para *M. incognita*, diferindo estatisticamente dos demais. Em relação ao número de galhas por sistema radicular

associadas a *M. javanica*, os genótipos com menores valores, foram também 'RB008347' e 'RB946903', incluindo 'RB036088', 'RB845210', 'RB925268', 'RB965902' e 'RB975932'.

Analisando-se a reprodução dos nematoides nos diferentes materiais genéticos de cana-de-açúcar testados (Tabela 22), o genótipo RB931003 foi o que apresentou os maiores valores de FR para *M. incognita* (FR= 96) e *M. javanica* (FR= 70). No entanto, os menores valores de FR para *M. incognita* foram observados em 'RB008347' (FR= 14) e 'RB946903' (FR=18); e, para *M. javanica*, em 'RB008347' e 'RB946903', 'RB008347', 'RB036088', 'RB845210', 'RB925268', 'RB946902', 'RB965902' e 'RB975932' (FR= 14 a 20), a semelhança dos menores danos nas raízes de cana-de-açúcar, conforme relatado anteriormente.

Quanto à densidade de ovos e J2 de *Meloidogyne* sp. por grama de raízes de cana-de-açúcar (Tabela 23), os genótipos com os menores valores para *M. incognita* foram RB008347 e RB946903; e, o maior valor, foi observado em RB966928; já para *M. javanica*, as maiores densidades populacionais/g de raízes foi também verificada no genótipo RB966928; e, o menor valor, em 'RB008347', diferindo significativamente dos demais genótipos.

Quando avaliou-se a interferência dos nematoides no desenvolvimento dos genótipos de cana-de-açúcar, verificou-se que para a grande maioria dos parâmetros analisados das plantas inoculadas com *M. incognita* e *M. javanica*, ocorreram consideráveis reduções significativas em relação às plantas não inoculadas (testemunhas), conforme pode ser observado nas tabelas 24 a 30.

Em relação a massa fresca da parte aérea (Tabela 24) das plantas inoculadas com *M. incognita* e *M. javanica*, verificou-se diferenças significativas entre os genótipos inoculados e os mesmos materiais genéticos não inoculados, cuja redução no parâmetro avaliado foi de 49 a 81% para *M. incognita* e de 43 a 73% para *M. javanica*. Nos genótipos mais afetados por *M. incognita*, foram verificadas reduções da massa fresca da parte aérea nos genótipos RB72454, RB965902, RB966928, RB98710, RB987935, RB99368 e RB996527; já para *M. javanica*, RB966928, RB98710, RB99368 foram aqueles que apresentam as maiores reduções. Entretanto, 'RB036152', 'RB931003' e 'RB008347' foram aqueles genótipos em que se observaram as menores reduções para ambas as espécies de nematoide-das-galhas estudadas.

Na avaliação da massa fresca do sistema radicular (Tabela 25), houve uma redução de 56 a 83% do peso dos diferentes genótipos inoculados com ambas as espécies do nematoide-das-galhas estudadas. Porém, a menor interferência de *M. javanica* sobre tal variável foi observada em RB016916, e para *M. incognita* em RB036152 e RB951541.

Em relação à altura das plantas (Tabela 26) parasitadas por *M. incognita*, os genótipos RB006970, RB006995, RB006996, RB008347, RB036152, RB867515, RB925268, RB946903, RB975932, RB987935 apresentaram os maiores valores e, diferiram dos demais tratamentos. Da mesma forma, os mesmos genótipos de cana-de-açúcar quando inoculados com *M. javanica* tiveram o comportamento semelhante para esta variável, exceto o para o 'RB987935'

Na análise do diâmetro do colmo das plantas inoculadas com o nematoide-das-galhas (Tabela 27), apesar dos genótipos RB951541, RB965902, RB975932 inoculados com *M. incognita* apresentarem os maiores valores, as menores reduções foram observadas em 'RB975932'. Para *M. javanica*, embora os valores do diâmetro do colmo sejam numericamente maiores, não diferiram estatisticamente de *M. incognita*, sendo as menores interferências desse nematoide sobre tal variável observada em 'RB008347', 'RB925268', 'RB951541', 'RB965902', 'RB966928', 'RB975932', 'RB99368' e 'RB996519'.

Avaliando-se o número de perfilhos (Tabela 28), não houve interação significativa entre materiais genéticos de cana-de-açúcar e inoculação. No entanto, avaliando-se os efeitos das inoculações dentro de cada genótipo, de uma forma geral, houve uma redução significativa do número de perfilhos das plantas parasitadas pelas duas espécies em comparação com a respectiva testemunha sem inoculação. Dependendo do genótipo observou-se um decréscimo do número de perfilhos de mais de 60% para *M. incognita* e acima de 40% para *M. javanica*, sendo as menores reduções, observadas em 'RB845210' e 'RB036152' respectivamente

Em relação à área foliar (Tabela 29) dos genótipos de cana-de-açúcar, verificou-se um decréscimo da área foliar das plantas inoculadas com ambas as espécies de nematóides, reduzindo, em média, 56 e 50% para *M. incognita* e *M. javanica*, respectivamente, em relação às testemunhas não inoculadas. Os genótipos RB006970, RB72454, RB867515, RB946903, RB965902, RB966928, RB98710, RB99368 e RB996527 foram aqueles que apresentaram maior redução da área foliar para *M. incognita* e *M. javanica*; e, os genótipos RB006996, RB008347, RB036088,

RB036152, RB845210, RB931003 e RB951541 foram os menos afetados para tal variável para ambas as espécies de nematoide-das-galhas.

Tabela 21 - Número médio de galhas em raízes de diferentes genótipos de cana-de-açúcar inoculados com *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica*, em casa de vegetação.

Genótipos	Número de galhas	
	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>
RB006970	3406 E b*	4421 C a
RB006995	5142 D a	4757 C a
RB006996	5919 C a	3451 D b
RB008347	1456 F a	1320 E a
RB016916	5584 D a	2895 D b
RB036088	7679 B a	2083 E b
RB036152	3873 E a	4249 C a
RB72454	6016 C a	3059 D b
RB845210	3791 E a	1778 E b
RB867515	3728 E a	3406 D a
RB925268	3355 E a	1866 E b
RB92579	5174 D a	3647 D b
RB931003	10035 A a	7347 A b
RB946903	1935 F a	1799 E a
RB951541	6166 C a	3490 D b
RB965560	6675 C a	3311 D b
RB965902	3918 E a	1953 E b
RB966928	7546 B a	5467 B b
RB975932	3190 E a	1733 E b
RB98710	6615 C a	4113 C b
RB987935	5233 D a	3920 C b
RB988082	5716 D a	5684 B a
RB99368	4348 E a	3619 D a
RB996519	6398 C a	4351 C b
RB996527	3637 E a	3409 D a
CV (%)	18,29	

* Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5%; CV = Coeficiente de Variação.

Tabela 22–Fator de reprodução de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* em diferentes genótipos de cana-de-açúcar.

Genótipos	Fator de Reprodução		Reação
	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	
RB006970	32 E b	42 C a	S
RB006995	49 D a	45 C a	S
RB006996	56 C a	33 D b	S
RB008347	14 F a	13 E b	S
RB016916	53 D a	28 D b	S
RB036088	73 B a	20 E b	S
RB036152	37 E a	41 C a	S
RB72454	57 C a	29 D b	S
RB845210	36 E a	17 E b	S
RB867515	36 E a	32 D a	S
RB925268	32 E a	18 E b	S
RB92579	49 D a	35 D b	S
RB931003	96 A a	70 A b	S
RB946903	18 F a	19 E a	S
RB951541	59 C a	33 D a	S
RB965560	64 C a	32 D b	S
RB965902	37 E a	19 E b	S
RB966928	72 B a	52 B b	S
RB975932	30 E a	17 E b	S
RB98710	63 C a	39 C b	S
RB987935	50 D a	37 C b	S
RB988082	54 D a	53 B a	S
RB99368	41 E a	35 D a	S
RB996519	61 C a	41 C b	S
RB996527	35 E a	32 D a	S
CV (%)	20,21		

* Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5%; CV = Coeficiente de Variação.

Tabela 23 - Número de nematoides (ovos + J₂) por grama de raiz de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* em diferentes genótipos de cana-de-açúcar.

Genótipos	NNGR	
	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>
RB006970	1503 C a	1554 B a
RB006995	2072 C a	1480 B b
RB006996	2198 C a	1017 C b
RB008347	431 E a	340 E a
RB016916	1871 C a	839 D b
RB036088	2661 B a	680 D b
RB036152	1255 D a	1144 C a
RB72454	3210 B a	1192 C b
RB845210	1264 D a	563 D b
RB867515	1652 C a	1195 C b
RB925268	1135 D a	627 D b
RB92579	2281 C a	1411 B b
RB931003	2873 B a	2134 B b
RB946903	867 E a	737 D a
RB951541	2211 C a	896 D b
RB965560	2562 B a	1236 C b
RB965902	1857 C a	780 D b
RB966928	4439 A a	3119 A b
RB975932	1509 C a	577 D b
RB98710	3295 B a	1836 B b
RB987935	2819 B a	1464 B b
RB988082	2356 C a	2079 B a
RB99368	2285 C a	1910 B a
RB996519	2282 C a	1467 B b
RB996527	1725 C a	1689 B a
CV (%)	23,55	

* Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5%; CV = Coeficiente de Variação.

Tabela 24 - Massa fresca da parte aérea (MFPA) de genótipos cana-de-açúcar inoculados ou não com *Meloidogyne incognita* ou *Meloidogyne javanica*.

Genótipos	Massa fresca da parte aérea (g)					
	Testemunha	<i>M. incognita</i>			<i>M. javanica</i>	
RB006970	391,0 C a	112,2 C b	(-71)	146,4 B b	(-63)	
RB006995	438,1 B a	130,0 B b	(-70)	155,8 B b	(-64)	
RB006996	336,6 D a	146,4 B b	(-56)	174,7 A b	(-48)	
RB008347	383,8 C a	189,9 A b	(-51)	207,3 A b	(-46)	
RB016916	341,6 D a	148,6 B b	(-57)	153,1 B b	(-55)	
RB036088	313,7 E a	160,8 B b	(-49)	180,3 A b	(-43)	
RB036152	376,6 C a	190,9 A b	(-49)	205,4 A b	(-45)	
RB72454	471,2 A a	82,1 D b	(-83)	148,5 B b	(-68)	
RB845210	408,2 C a	159,3 B b	(-61)	162,1 A b	(-60)	
RB867515	367,5 D a	115,9 C b	(-68)	138,3 B b	(-62)	
RB925268	428,8 B a	159,3 B b	(-63)	147,2 B b	(-66)	
RB92579	295,1 E a	132,8 B b	(-55)	138,9 B b	(-53)	
RB931003	422,8 B a	187,2 A b	(-56)	193,4 A b	(-54)	
RB946903	296,5 E a	118,3 C b	(-60)	126,1 B b	(-57)	
RB951541	321,2 E a	154,5 B b	(-52)	185,7 A b	(-42)	
RB965560	377,6 C a	141,0 B b	(-63)	124,3 B b	(-67)	
RB965902	385,6 C a	101,2 D b	(-74)	135,1 B b	(-65)	
RB966928	427,0 B a	82,1 D b	(-81)	84,8 C b	(-80)	
RB975932	341,6 D a	119,1 C b	(-65)	189,9 A b	(-44)	
RB98710	431,5 B a	94,5 D b	(-78)	97,7 C b	(-77)	
RB987935	444,0 B a	84,6 D b	(-81)	144,2 B b	(-68)	
RB988082	328,1 D a	142,2 B b	(-57)	137,8 B b	(-58)	
RB99368	355,2 D a	89,7 D b	(-75)	96,2 C b	(-73)	
RB996519	353,6 D a	145,3 B b	(-59)	146,9 B b	(-58)	
RB996527	291,4 E a	114,1 D b	(-61)	128,1 B b	(-56)	
RM						
CV(%)		25,44				

* Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5%; CV = Coeficiente de Variação.

Tabela 25 - Massa fresca do sistema radicular (MFSR) de genótipos cana-de-açúcar inoculados ou não com *Meloidogyne incognita* ou *Meloidogyne javanica*.

Genótipos	Massa fresca do sistema radicular (g)							
	Testemunha		<i>M. incognita</i>			<i>M. javanica</i>		
RB006970	370,2	B a	108,0	C b	(-71)	135,6	A b	(-63)
RB006995	472,4	A a	118,3	C b	(-75)	153,2	A b	(-68)
RB006996	451,7	A a	128,4	B b	(-72)	161,7	A b	(-64)
RB008347	501,8	A a	161,0	B b	(-68)	184,8	A b	(-63)
RB016916	375,0	B a	142,2	A b	(-62)	164,4	A b	(-56)
RB036088	381,1	B a	137,6	B b	(-64)	146,1	A b	(-62)
RB036152	426,0	B a	147,1	B b	(-65)	177,1	A b	(-58)
RB72454	460,0	A a	89,3	C b	(-81)	122,3	B b	(-73)
RB845210	460,0	A a	143,0	B b	(-69)	150,5	A b	(-67)
RB867515	477,3	A a	107,6	C b	(-77)	135,8	A b	(-72)
RB925268	495,7	A a	141,0	B b	(-72)	141,9	A b	(-71)
RB92579	385,9	B a	108,1	C b	(-72)	123,2	B b	(-68)
RB931003	454,7	A a	166,5	B b	(-63)	164,1	A b	(-64)
RB946903	400,8	B a	106,4	C b	(-73)	129,3	B b	(-68)
RB951541	428,6	B a	133,0	B b	(-69)	185,7	A b	(-57)
RB965560	480,3	A a	124,2	B b	(-74)	127,7	B b	(-73)
RB965902	459,0	A a	100,6	C b	(-78)	119,3	B b	(-74)
RB966928	480,8	A a	81,0	C b	(-83)	83,6	B b	(-83)
RB975932	434,1	A a	100,8	C b	(-77)	143,2	A b	(-67)
RB98710	498,0	A a	95,7	C b	(-81)	106,8	B b	(-79)
RB987935	457,2	A a	88,5	C b	(-81)	127,7	B b	(-72)
RB988082	411,7	B a	115,7	C b	(-72)	130,3	B b	(-68)
RB99368	437,2	A a	90,7	C b	(-79)	90,3	B b	(-79)
RB996519	439,0	A a	133,6	B b	(-70)	141,3	A b	(-68)
RB996527	392,8	B a	100,5	C b	(-74)	96,2	B b	(-76)
CV(%)	26,76							

* Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5%; CV = Coeficiente de Variação.

Tabela 26 –Altura de plantas (AP) de genótipos cana-de-açúcar inoculados ou não com *Meloidogyne incognita* ou *Meloidogyne javanica*.

Genótipos	Altura de plantas (cm)							
	Testemunha		<i>M. incognita</i>		<i>M. javanica</i>			
RB006970	200,7	A a	161,2	A b	(-20)	164,2	A b	(-18)
RB006995	192,3	A a	155,7	A b	(-19)	158,7	A b	(-18)
RB006996	188,0	A a	161,3	A b	(-14)	164,3	A b	(-13)
RB008347	196,3	A a	169,0	A b	(-14)	176,2	A b	(-10)
RB016916	190,2	A a	152,2	B b	(-20)	155,2	B b	(-18)
RB036088	197,8	A a	149,2	B b	(-25)	152,2	B b	(-23)
RB036152	193,0	A a	161,8	A b	(-16)	164,8	A b	(-15)
RB72454	195,3	A a	150,8	B b	(-23)	153,8	B b	(-21)
RB845210	192,7	A a	150,7	B b	(-22)	153,7	B b	(-20)
RB867515	196,0	A a	156,5	A b	(-20)	159,5	A b	(-19)
RB925268	195,0	A a	158,2	A b	(-19)	161,2	A b	(-17)
RB92579	191,8	A a	143,3	B b	(-25)	147,3	B b	(-23)
RB931003	193,2	A a	146,7	B b	(-24)	149,7	B b	(-23)
RB946903	190,8	A a	165,5	A b	(-13)	168,5	A b	(-12)
RB951541	195,3	A a	152,3	B b	(-22)	155,3	B b	(-20)
RB965560	194,3	A a	146,3	B b	(-25)	149,3	B b	(-23)
RB965902	191,7	A a	142,7	B b	(-26)	145,7	B b	(-24)
RB966928	199,0	A a	150,3	B b	(-24)	153,3	B b	(-23)
RB975932	198,5	A a	158,7	A b	(-20)	166,7	A b	(-16)
RB98710	199,7	A a	145,2	B b	(-27)	148,2	B b	(-26)
RB987935	206,0	A a	156,0	A b	(-24)	159,0	B b	(-23)
RB988082	193,3	A a	145,5	B b	(-25)	148,5	B b	(-23)
RB99368	192,2	A a	142,2	B b	(-26)	145,2	B b	(-24)
RB996519	196,7	A a	146,0	B b	(-26)	149,0	B b	(-24)
RB996527	189,7	A a	147,3	B b	(-22)	150,3	B b	(-21)
CV(%)					23,29			

* Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5%; CV = Coeficiente de Variação

Tabela 27 –Diâmetro do colmo (DC) de genótipos cana-de-açúcar inoculados ou não com *Meloidogyne incognita* ou *Meloidogyne javanica*.

Genótipos	Diâmetro do colmo (mm)					
	Testemunha	<i>M. incognita</i>			<i>M. javanica</i>	
RB006970	31,0 C a	14,3 C b	(-54)	18,1 B b	(-42)	
RB006995	28,4 C a	11,6 C b	(-59)	15,2 C b	(-47)	
RB006996	27,7 C a	10,9 C b	(-61)	14,3 C b	(-48)	
RB008347	33,1 B a	16,7 B b	(-50)	20,4 A b	(-38)	
RB016916	30,3 C a	13,5 C b	(-55)	17,3 B b	(-43)	
RB036088	30,7 C a	13,9 C b	(-55)	17,7 B b	(-42)	
RB036152	30,3 C a	13,5 C b	(-55)	17,3 B b	(-43)	
RB72454	31,9 B a	15,1 C b	(-52)	19,1 B b	(-40)	
RB845210	30,5 C a	13,8 C b	(-55)	17,5 B b	(-43)	
RB867515	30,0 C a	13,2 C b	(-56)	16,9 B b	(-44)	
RB925268	32,9 B a	16,2 B b	(-51)	20,3 A b	(-38)	
RB92579	29,6 C a	12,8 C b	(-57)	16,5 C b	(-44)	
RB931003	28,8 C a	12,0 C b	(-58)	15,6 C b	(-46)	
RB946903	31,1 C a	14,3 C b	(-54)	18,2 B b	(-42)	
RB951541	35,0 A a	18,3 A b	(-48)	22,6 A b	(-35)	
RB965560	31,9 B a	15,2 C b	(-52)	19,1 B b	(-40)	
RB965902	36,3 A a	19,7 A b	(-46)	24,1 A b	(-34)	
RB966928	33,5 B a	16,8 B b	(-50)	20,9 A b	(-38)	
RB975932	30,9 C a	19,1 A b	(-38)	22,1 A b	(-28)	
RB98710	31,8 B a	15,1 C b	(-53)	19,0 B b	(-40)	
RB987935	29,3 C a	16,2 B b	(-45)	18,6 B b	(-37)	
RB988082	31,3 B a	15,0 C b	(-52)	19,0 B b	(-40)	
RB99368	32,8 B a	16,1 B b	(-51)	20,1 A b	(-39)	
RB996519	33,3 B a	16,6 B b	(-50)	20,7 A b	(-38)	
RB996527	30,5 C a	13,8 C b	(-55)	17,5 B b	(-43)	
CV (%)	19,22					

* Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5%; CV = Coeficiente de Variação.

Tabela 28 –Número de perfilhos (NP) de genótipos cana-de-açúcar inoculados ou não com *Meloidogyne incognita* ou *Meloidogyne javanica*.

Genótipos	Número de perfilho					
	Testemunha	<i>M. incognita</i>			<i>M. javanica</i>	
RB006970	3,2 A a	0,7 A b	(-79)	1,2 A b	(-63)	
RB006995	3,5 A a	0,7 A b	(-81)	0,5 A b	(-86)	
RB006996	3,5 A a	1,0 A b	(-71)	1,0 A b	(-71)	
RB008347	2,7 A a	0,5 A b	(-81)	0,8 A b	(-69)	
RB016916	2,7 A a	1,0 A b	(-62)	0,8 A b	(-69)	
RB036088	2,7 A a	0,8 A b	(-69)	0,8 A b	(-69)	
RB036152	3,0 A a	1,0 A b	(-67)	1,8 A b	(-40)	
RB72454	3,2 A a	0,7 A b	(-79)	1,3 A b	(-58)	
RB845210	3,3 A a	1,2 A b	(-65)	1,2 A b	(-65)	
RB867515	3,5 A a	1,0 A b	(-71)	1,3 A b	(-62)	
RB925268	2,5 A a	0,7 A b	(-74)	1,3 A b	(-47)	
RB92579	3,5 A a	1,0 A b	(-71)	0,5 A b	(-86)	
RB931003	3,3 A a	0,5 A b	(-85)	1,0 A b	(-70)	
RB946903	3,0 A a	1,0 A b	(-67)	0,8 A b	(-72)	
RB951541	3,2 A a	1,0 A b	(-68)	1,0 A b	(-68)	
RB965560	3,3 A a	1,0 A b	(-70)	1,0 A b	(-70)	
RB965902	3,0 A a	0,8 A b	(-72)	1,8 A b	(-39)	
RB966928	3,7 A a	0,7 A b	(-82)	1,2 A b	(-68)	
RB975932	3,2 A a	0,8 A b	(-74)	0,5 A b	(-84)	
RB98710	3,5 A a	0,8 A b	(-76)	1,5 A b	(-57)	
RB987935	2,5 A a	0,8 A b	(-67)	1,0 A b	(-60)	
RB988082	3,2 A a	1,0 A b	(-68)	0,8 A b	(-74)	
RB99368	2,8 A a	0,7 A b	(-77)	0,7 A b	(-77)	
RB996519	3,5 A a	1,0 A b	(-71)	1,3 A b	(-62)	
RB996527	3,5 A a	1,0 A b	(-71)	1,2 A b	(-67)	
CV (%)		16,16				

* Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5%; CV = Coeficiente de Variação.

Tabela 29 –Área foliar (AF) de genótipos cana-de-açúcar inoculados ou não com *Meloidogyne incognita* ou *Meloidogyne javanica*.

Genótipos	Área foliar (cm ² planta ⁻¹)					
	Testemunha		<i>M. incognita</i>		<i>M. javanica</i>	
RB006970	390,0	A a	140,2	B b	(-64)	183,0 B b (-53)
RB006995	472,6	A a	162,5	A b	(-66)	194,8 B b (-59)
RB006996	345,7	B a	183,0	A b	(-47)	218,4 A b (-37)
RB008347	404,7	A a	237,3	A b	(-41)	259,1 A b (-36)
RB016916	352,1	B a	185,8	A b	(-47)	191,3 B b (-46)
RB036088	317,1	B a	201,0	A b	(-37)	225,3 A b (-29)
RB036152	395,8	A a	238,6	A b	(-40)	256,7 A b (-35)
RB72454	414,0	A a	102,6	B b	(-75)	185,6 B b (-55)
RB845210	418,7	A a	199,1	A b	(-52)	202,7 A b (-52)
RB867515	384,4	A a	144,8	B b	(-62)	172,9 B b (-55)
RB925268	427,7	A a	199,1	A b	(-53)	184,0 B b (-57)
RB92579	293,9	B a	166,0	A b	(-44)	173,7 B b (-41)
RB931003	453,5	A a	234,1	A b	(-48)	241,7 A b (-47)
RB946903	295,6	B a	147,9	B b	(-50)	157,6 B b (-47)
RB951541	326,5	B a	193,2	A b	(-41)	232,1 A b (-29)
RB965560	397,0	A a	176,2	A b	(-56)	155,4 B b (-61)
RB965902	407,0	A a	126,5	B b	(-69)	168,8 B b (-59)
RB966928	458,8	A a	102,6	B b	(-78)	106,0 B b (-77)
RB975932	352,1	B a	148,8	B b	(-58)	237,4 A b (-33)
RB98710	447,7	A a	118,1	B b	(-74)	122,1 B b (-73)
RB987935	493,6	A a	136,4	B b	(-72)	196,9 A b (-60)
RB988082	335,1	B a	177,8	A b	(-47)	172,2 B b (-49)
RB99368	369,0	B a	112,1	B b	(-70)	120,3 B b (-67)
RB996519	367,0	B a	181,7	A b	(-51)	183,6 B b (-50)
RB996527	289,2	B a	142,6	B b	(-51)	160,2 B b (-45)
CV (%)	21,77					

* Médias seguidas por letras iguais e minúsculas, na mesma linha, e, maiúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5%; CV = Coeficiente de Variação.

A suscetibilidade de variedades de cana-de-açúcar a *M. incognita* e *M. javanica* tem sido observada por outros pesquisadores. Dinardo-Miranda et al. (1995), estudando a reação de doze variedades de cana-de-açúcar a *M. javanica* em áreas naturalmente infestadas, observaram que todos os genótipos foram suscetíveis ao nematoide, no entanto, verificaram que os genótipos RB735275, SP71-1632 e SP72-1861 comportaram-se como tolerantes. Em trabalho recente Bellé et al. (2017), estudando a reação de 10 genótipos (grupo RB) de cana-de-açúcar a *M. javanica*, verificaram valores de FR e de número de galhas muito semelhante aos encontrados no presente estudo. Em outro trabalho, Dias-Arieira et al. (2010), avaliando a reação de genótipos do grupo RB a *M. javanica* e *M. incognita*, incluindo alguns genótipos comuns (RB72454, RB867515 e RB975932), constataram que todos os materiais genéticos testados foram suscetíveis a ambas espécies do nematoide-das-galhas. Porém, os valores de FR observados por esses autores foram de 3 a 10 vezes menores do que aqueles obtidos no presente estudo, fato esse que pode estar associado ao menor período em que as plantas permaneceram inoculadas.

De maneira geral, a interferência negativa dos nematoides no desenvolvimento vegetativo das plantas de cana-de-açúcar, conforme observado no presente estudo, pode estar relacionada à espoliação de nutrientes da planta durante a sua alimentação nos sítios de alimentação das raízes parasitadas em função da alteração na absorção e translocação de água e nutrientes, modificação ou destruição dos tecidos das raízes, e, diminuição do crescimento das mesmas (HUSSEY; WILLIAMSON, 1998). Nesse sentido, tais efeitos foram constatados no presente trabalho, conforme correlações negativas ($p < 0,05$) observadas entre FR, número de galhas e densidade populacional de *Meloidogyne* spp. nas raízes com a massa fresca da parte aérea ($R = -0,70$), massa fresca da raiz ($R = -0,70$), área foliar ($R = -0,75$), diâmetro do colmo ($R = -0,80$), número de perfilhos ($R = -0,65$), e altura de plantas ($R = -0,70$).

Conforme verificado neste trabalho, plantas de cana-de-açúcar parasitadas com *M. incognita* e *M. javanica* apresentam uma significativa redução da área foliar quando comparados com plantas sem a presença dos nematoides. De acordo com vários autores, essa redução ocorre devido à utilização rápida do carbono fixado nas folhas pelos nematoides-das-galhas, os quais consomem uma significativa parte do total de energia produzida pelas plantas (MELAKEBERHAN et al., 1990; CARNEIRO et al., 1999; CARNEIRO, 2000). O elevado conteúdo protéico do corpo das fêmeas de *Meloidogyne*, em função do seu tamanho, e, associado à alta capacidade de produção

de ovos que apresentam, além das modificações que causam na organização e na fisiologia das raízes, alteram o padrão energético das plantas, comprometendo-lhes a capacidade de manter e expandir certas estruturas como as folhas (ASMUS; FERRAZ, 2001). Dessa forma, densidades populacionais elevadas de nematoides, podem levar a diminuição na produção de fotoassimilados em decorrência da menor área foliar fotossintetizante associada ao efeito de dreno metabólico exercido pelo nematoide, resultando na redução de massa fresca de parte aérea das plantas parasitadas (ASMUS; FERRAZ, 2001). Gonçalves et al. (1995) também destacaram que sintomas como redução da área foliar, deficiência mineral e murcha temporária, durante o período mais quente do dia, e, a baixa produtividade, são consequências de raízes danificadas, característico de plantas atacadas por nematoides. Uma vez que os nutrientes absorvidos pelas raízes são levados a parte aérea via xilema, seria esperado que qualquer alteração no fluxo da água pudesse também acarretar em problemas fisiológicos. Assim, dependendo do nematoide que esteja parasitando as raízes de uma planta, pode haver diminuição na absorção de nutrientes pela própria redução do sistema radicular, como também pela disfunção ocasionada no mesmo (SIDDIQUI et al., 2014). Como consequência, estes fatos podem levar a reduções no crescimento da planta como observado neste estudo, e, conseqüentemente, na produtividade das plantas de cana-de-açúcar.

A redução da massa da parte aérea e do sistema radicular de todos os genótipos de cana-de-açúcar inoculados com *M. incognita* e *M. javanica* foi bastante evidente, pois independentemente das espécies de nematoides ou dos genótipos, o impacto negativo, em sua grande maioria, foi acima de 50%. Resultados semelhantes foram verificados por Bisognin (2017), estudando a interação cana-de-açúcar x *Pratylenchus* spp. verificaram redução de 41 a 47% na massa fresca de parte aérea e radicular independente da espécie do nematoide-das-lesões (*P. zae* ou *P. brachyurus*). Já Sharma e Rodríguez (1982), que trabalhando com plantas de soja inoculadas com *M. javanica*, observaram redução significativa na massa fresca de parte aérea e radicular. O mesmo foi verificado em um experimento onde avaliou-se a agressividade de diferentes níveis populacionais de *M. incognita* em plantas de fumo (DI VITO et al., 1983). Os autores observaram que à medida que se aumentava o nível populacional do nematoide, notava-se redução na massa fresca de parte aérea das plantas inoculadas, sendo o nível populacional de 2 espécimes/mL⁻¹ de solo, suficiente para causar redução significativa e perda na produção das plantas. Já Barbosa et al.

(2009), ao avaliarem variáveis biométricas (número de perfilhos e de colmos) de plantas de cana-de-açúcar parasitadas por *M. incognita* e *M. javanica*, perceberam que não houve diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha. Em contrapartida, isso pode ter ocorrido devido os autores terem avaliado apenas a variedade SP911049 de cana-de-açúcar. A massa fresca da raiz pode servir como indicativo direto da ação do parasitismo dos mesmos, uma vez que, plantas com reduzidos sistemas radiculares, podem ser consideradas intolerantes, devido aos danos ocasionados.

Entre os efeitos prejudiciais decorrentes da presença do nematoide ao desenvolvimento das plantas de cana-de-açúcar inoculadas, observou-se redução na altura, no diâmetro do colmo e no número de perfilhos. Essas reduções podem ser um indicativo de que os nematoides nas raízes atuam como eficientes drenos metabólicos (CARNEIRO et al., 1999; CARNEIRO, 2000; CIRRINICIONE et al., 2009), prejudicando o processo de desenvolvimento das plantas de cana-de-açúcar. De acordo com Cadet e Spaul (2005), em áreas de produção, as perdas ocasionadas por *M. javanica* podem chegar a 15 toneladas de cana-de-açúcar por hectare. Deve-se ressaltar que essa espécie tem sido assinalada como uma das mais frequentes nos canaviais brasileiros (DINARDO-MIRANDA et al., 2003a; SEVERINO et al., 2008; BELLÉ et al., 2014). Dessa forma, estudos nessa linha podem contribuir para minimizar os prejuízos à cultura decorrentes do ataque de fitonematoides.

Entre os materiais genéticos testados, o genótipo RB008347 foi o que apresentou os menores níveis de suscetibilidade a *M. incognita* e *M. javanica*, conforme as menores taxas de reprodução (FR) e desempenho de desenvolvimento das plantas considerando-se as variáveis massa fresca da parte aérea, altura de plantas e área foliar. Este genótipo possui um ciclo médio-tardio e apresenta resistência à geada e ótimo desempenho agrônômico (SILVA et al., 2012; VERÍSSIMO et al., 2012), sendo uma boa alternativa para regiões subtropicais como o sul do Brasil.

Dentre as variedades estudadas neste trabalho, RB72454 (29>FR<57) está entre as mais suscetíveis e intolerantes aos nematoides-das-galhas (RÉGIS; MOURA, 1989; DINARDO-MIRANDA, 2001). Em trabalho conduzido por Régis e Moura (1989), o ataque de *M. incognita* reduziu significativamente a massa fresca da parte aérea da referida variedade. Em outro estudo além da RB72454, as variedades RB835486 e RB845257 também se mostraram suscetíveis a esta espécie de nematoide, com

incremento de 40 t/ha na produtividade na RB835486 com a aplicação de carbofuran (DINARDO-MIRANDA, 2001).

Outros trabalhos realizados em diferentes países têm comprovado a suscetibilidade da cana-de-açúcar aos nematoides-das-galhas. Na Nigéria, Salawu (1990) avaliando a reação de 12 variedades comerciais a *M. incognita*, observou que todos os materiais se comportaram como altamente suscetíveis após 195 dias de inoculação, mesmo aqueles cujas massas de parte aérea e raízes foram elevadas. Em experimentos realizados na Austrália, por Stirling e Blair (2000), os autores demonstraram que níveis populacionais iniciais de *M. javanica* superiores a 100 espécimes/200 g de solo foram suficientes para promoverem a redução na produção de cana-de-açúcar; já população inicial de 2 espécimes de *M. incognita*/mL⁻¹ de solo são capazes de causar decréscimo da produção de tabaco (DI VITO et al., 1983). Nesse sentido, é importante ressaltar que o comportamento de variedades de cana-de-açúcar é variável no campo e nem sempre os maiores números de nematoides refletem em redução nos parâmetros vegetativos da planta. Um exemplo disto pode ser evidenciado no trabalho realizado por Barros et al. (2005), no qual se observou que a variedade SP79-1011 foi a que apresentou maior número de nematoides (*Meloidogyne* + *Pratylenchus*) nas amostras, no entanto, esse material genético não teve seu rendimento comprometido quando comparada com as variedades RB813804 e RB72454, comportando-se como tolerante segundo os autores.

Os dados obtidos com o presente trabalho demonstraram que as variedades avaliadas apresentaram reação de suscetibilidade a *M. incognita* e *M. javanica*. Nesse sentido, a suscetibilidade da cana-de-açúcar ao nematoide-das-galhas é um importante indicativo da necessidade de adoção de outras medidas de controle, uma vez que tais espécies se encontram amplamente difundidas nas áreas de cultivo. Embora várias estratégias de manejo sejam utilizadas para o aumento da produtividade dos canaviais (DINARDO-MIRANDA et al., 2003b; DINARDO-MIRANDA et al., 2008; DINARDO-MIRANDA, 2008; CHAVES et al., 2009b; NOVARETTI; REIS, 2009), nenhuma delas isoladamente tem sido totalmente efetiva para manter as populações abaixo do nível de dano econômico. Tal condição reflete a necessidade de adoção de outras medidas de controle conjuntamente a fim de possibilitar mais rapidamente, e em maior grau, a redução da população inicial de nematoides em áreas de cultivo de cana-de-açúcar, minimizando, assim, os problemas ocasionados por tais patógenos. Contudo, faz-se necessário a instalação

de experimentos em áreas de cultivo a fim de estudar o comportamento das variedades no campo.

Apesar dos dados obtidos com o presente trabalho demonstrarem que todos os genótipos avaliados apresentam suscetibilidade a *M. incognita* e *M. javanica*, o uso de materiais genéticos com menor suscetibilidade, associado a outras estratégias de manejo, conforme abordado anteriormente, pode contribuir para o aumento da viabilidade do canavial. Entre essas medidas, incluem-se a incorporação de matéria orgânica no sistema, o emprego de plantas antagônicas, a rotação de culturas com plantas não hospedeiras e o uso de poucas aplicações de nematicidas sistêmicos na cultura (AGROFIT, 2018), indutores de resistência e uso de nematicidas biológicos. Aliado a essas alternativas, ainda, pode-se fazer uso da associação de genótipos de cana-de-açúcar a rizobactérias biocontroladoras e promotoras de crescimento que tem apresentado resultados promissores no controle de fitonematoides (PACHECO et al., 2016; BISOGNIN, 2017). Dessa forma, a utilização destas técnicas em conjunto pode contribuir decisivamente para a redução das populações de fitonematoides em áreas de cultivo de cana-de-açúcar com o intuito de minimizar os problemas ocasionados por tais patógenos e, conseqüentemente, aumentar a produtividade da cultura.

4.3.2 Impacto de diferentes espécies de *Meloidogyne* no desenvolvimento das plantas de cana-de-açúcar

De acordo com os resultados obtidos nesse estudo, verificou-se que todas as espécies de *Meloidogyne* testadas afetaram negativamente o desenvolvimento e composição de algumas frações analisadas das plantas de cana de açúcar comparativamente a testemunha não inoculada (Tabelas 30 a 34).

Os dados apresentados na Tabela 30 demonstram a elevada reprodução de *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. incognita* no genótipo RB867515 cujos valores de FR variaram de 74 a 105. Da mesma forma, verificou-se elevado número de galhas nas raízes das plantas inoculadas com as três espécies do nematoide-das-galhas; enquanto que a densidade de nematoides por grama de raiz foi o dobro para *M. arenaria* e *M. incognita* comparativamente aquela observada nas raízes parasitadas por *M. javanica*. Embora o número de ovos e J2 de *Meloidogyne* spp./g de raízes

também tenha refletido no menor fator de reprodução de *javanica*, a diferença entre os valores de FR dessa e das outras duas espécies, foi menor.

Os valores das variáveis massa fresca da parte área e de raízes, altura de plantas, número de perfilhos, número de colmos e diâmetro do colmo (Tabela 31) não diferiram entre as espécies do nematoide-das-galhas estudadas, no entanto, foram significativamente menores que aqueles obtidos na testemunha não inoculada. Nesse sentido, verificou-se reduções médias da massa fresca do sistema radicular, massa fresca da parte área, altura de planta, número de perfilhos, número de colmos, diâmetro do colmo e altura de plantas em 68,6, 65, 58,3, 50,7, 28,3 e 12,8%, respectivamente, independentemente da espécie do nematoide-das-galhas.

Tabela 30 –Número de galhas (NG), número de nematoides por grama de raiz (NNGR) e fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne arenaria*, *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* em planta de cana-de-açúcar 'RB867515'.

Espécies	NG	NNGR	FR
<i>M. arenaria</i>	10253 a*	684 a	98 A
<i>M. javanica</i>	9687 a	396 b	74 B
<i>M. incognita</i>	11494 a	751 a	105 A
CV (%)	23,51	24,19	21,16

* Médias seguidas pelas mesmas letras, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

Tabela 31 – Valores de Massa fresca do sistema radicular (MFSR), Massa fresca da parte aérea (MFPA), Altura de plantas (AP), Número de perfilho (NP), Número de colmos (NC) e Diâmetro do colmo (DC) em plantas de cana-de-açúcar 'RB867515' inoculadas ou não com *Meloidogyne* spp.

Espécies	MFSR (g)	MFPA (g)	AP (mm)	NP	NC (planta ⁻¹)	DC (mm)
<i>M. arenaria</i>	728,3 b*	1358,3 b	225 b	3,4 b	3,6 B	26,1 b
<i>M. javanica</i>	945,0 b	1481,7 b	226,6 b	3,6 b	3,5 B	27,2 b
<i>M. incognita</i>	716,7 b	1191,7 b	217,5 b	3,3 b	3,4 B	25,6 b
Testemunha	2541,7 a	3858,3 a	255,8 a	8,3 a	7,1 A	36,7 a
CV (%)	19,95	17,07	23,83	20,35	24,46	18,14

*Médias seguidas pelas mesmas letras, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

Analisando as variáveis massa fresca de colmos, volume de caldo, área foliar e os teores de clorofila *a*, *b* e total (Tabela 32; Figura 7), verificou-se redução de todos os parâmetros avaliados quando comparado com a testemunha não inoculada, independentemente da espécie do nematoide-das-galhas, resultando em reduções significativas acima 50%.

Em relação aos teores de fibras em detergente neutro e ácido (Tabela 33), que tem por objetivo avaliar a digestibilidade das folhas de cana, observou-se um aumento

expressivo (55%) nos níveis detectados nas plantas inoculadas, independentemente da espécie do nematoide quando comparados aos valores observados nas plantas não inoculadas (testemunhas). Tais interferências foram também verificadas para os teores de lignina, celulose e hemicelulose da parte aérea das plantas (Tabela 33) de cana-de-açúcar inoculadas com *Meloidogyne* spp., observando-se aumentos médios da ordem de 83,3, 80,4 e 81,3%, respectivamente.

Tabela 32 – Valores de Massa fresca dos colmos (MFC), volume de caldo (VC), Área foliar (cm² planta⁻¹), índice de clorofila a (CLO a), clorofila b (CLO b), clorofila total (CLO total) em plantas de cana-de-açúcar 'RB867515' inoculadas ou não com *Meloidogyne* spp.

Espécies	MFC (g)	VC (L)	AF (cm ² planta ⁻¹)	CLO A	CLO B	CLO TOTAL
<i>M. arenaria</i>	918,6 b	0,56 b	1670,4 b	123,6 b	29,1 b	151,8 b
<i>M. javanica</i>	1025,5 b	0,53 b	1740,6 b	121,6 b	28,6 b	150,3 b
<i>M. incognita</i>	850,5 b	0,54 b	1743,7 b	112,1 b	34,8 b	147,0 b
Testemunha	2725,6 a	1,5 a	3822,7 a	272,5 a	72,6 a	345,2 a
CV (%)	22,34	23,47	19,8	19,11	20,52	17,7

* Médias seguidas pelas mesmas letras, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

Tabela 33 – Valores de Fibra em detergente neutro (FDN), Fibra em detergente ácido (FDA), Lignina (Lig), Celulose (Cel), Hemicelulose (Hemicel) em plantas de cana-de-açúcar 'RB867515' inoculadas ou não com *Meloidogyne* spp.

Espécies	FDA	FDN	Lig (%)	Cel (%)	Hemicel (%)
<i>M. arenaria</i>	40,2 a	86,4 a	5,5 a	34,7 a	45,2 a
<i>M. javanica</i>	39,3 a	84,5 a	5,3 a	33,9 a	44,5 a
<i>M. incognita</i>	42,2 a	89,0 a	5,7 a	36,4 a	47,4 a
Testemunha	22,6 b	48,7 b	3,0 b	19,4 b	25,2 b
CV (%)	21,27	21,37	15,75	21,83	22,14

* Médias seguidas pelas mesmas letras, na coluna, não diferem pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

Tabela 34 – Porcentagem de sólidos presentes dissolvidos na água (°Brix), teor de sacarose aparente do caldo (POL) e açúcares redutores do caldo (AR) em plantas de cana-de-açúcar RB867515 inoculadas ou não com *Meloidogyne* spp.

Espécies	°Brix	POL (%)	AR (%)
<i>M. arenaria</i>	17,75 b	12,27 b	1,26 A
<i>M. javanica</i>	18,21 b	12,63 b	1,21 A
<i>M. incognita</i>	17,95 b	12,00 b	1,39 A
Testemunha	21,53 a	18,05 a	0,76 B
CV (%)	19,18	15,67	19,52

* Médias seguidas pelas mesmas letras, na coluna, não diferem pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

Analisando os teores de °Brix, porcentagem aparente de sacarose (Pol%) e açúcares redutores (Tabela 34) do caldo de cana-de-açúcar, verificou-se o nematoide-das-galhas também interferiu negativamente na produção dessas variáveis respostas, independentemente da espécie quando comparadas as plantas não inoculadas (testemunhas). A redução média para o °Brix e Pol% foi de 17,7 e 31,8% respectivamente; porém a maior interferência foi observada na produção dos açúcares redutores, verificando-se aumentos significativos médios de 72%.

As taxas de reprodução de *M. javanica* e *M. incognita* na variedade RB867515 obtidas nesse estudo se assemelham aquelas encontradas por outros pesquisadores (GUIMARÃES et al, 2008; CHAVES et al., 2009; SILVA et al., 2012; SILVA et al., 2016). Regis e Moura (1989) também observaram valores de FR>27 para *M. incognita* em cinco variedades de cana-de-açúcar, aos 110 dias após a inoculação. Cabe ressaltar que para a espécie *M. arenaria*, não há trabalhos na literatura com dados sobre a reprodução e o seu efeito no desenvolvimento de plantas de cana-de-açúcar, muito embora sua presença seja recorrente em levantamentos nematológicos em cultivos de cana-de-açúcar no Brasil (MOURA et al., 2009; BELLÉ, 2014; NORONHA et al., 2017). As menores taxas de multiplicação de *M. javanica* em relação a *M. incognita* observada neste trabalho vão de encontro aquela relatada por Dinardo-Miranda (1999) o qual observou uma variação de 4,5 a 9 vezes maior nos níveis populacionais da primeira comparativamente a segunda.

A redução significativa no desenvolvimento vegetativo das plantas de cana-de-açúcar parasitadas com *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. incognita*, observada nesse estudo, resultou em correlação negativa ($p < 0,05$) de várias variáveis como a massa fresca da parte aérea ($R = -0,80$ a $-0,91$) e do sistema radicular ($R = -0,72$ a $-0,82$), número de perfilhos ($R = -0,67$ a $-0,67$), altura de plantas ($R = -0,71$ a $-0,75$), diâmetro do colmo ($R = -0,70$ a $-0,76$), área foliar ($R = -0,79$ a $-0,91$), massa fresca de colmos ($R = -0,75$ a $-0,88$), volume de caldo ($R = -0,81$ a $-0,92$) com as variáveis FR/número de galhas/densidade populacional de *Meloidogyne* spp. Nesse sentido a infecção das plantas com tal patógeno influenciará diretamente na quantidade de colmos e caldo produzidos pelas plantas. Nesse sentido, Regis e Moura (1989) avaliando em cinco genótipos de cana-de-açúcar (CB45-3, Co997, Na56-79, RB72454 e RB732577) inoculados com *M. incognita*, verificaram reduções significativas da parte aérea e do sistema radicular que foi, segundo os autores, ficaram comprometidos em função dos

engrossamentos radiculares (galhas), necroses e redução das ramificações das raízes.



Figura 7 - Massa fresca dos colmos (MFC) de plantas de cana-de-açúcar 'RB867515' inoculadas ou não com *Meloidogyne* spp.

A redução média da massa fresca de colmo foi de 66% independentemente da espécie de *Meloidogyne* inoculada nas plantas de cana-de-açúcar, corroborando com aquela encontrada por Dinardo-Miranda (1999). Nesse trabalho o autor verificou

redução 61,5% na produção de colmos de cana-de-açúcar quando as plantas estão infectadas com *M. incognita*, e, 54,2% para *M. javanica*. Considerando-se a redução média na produção de colmos observada nesse estudo, prejuízos decorrentes da infestação do nematoide-das-galhas em canaviais infestados poderiam resultar em perdas da ordem de 48,3 t/ha.

A redução significativa dos valores de área foliar, índice de clorofila *a*, *b* e total associada às três espécies do nematoide-das-galhas detectada no presente estudo, reflete diretamente no potencial de rendimento da cultura conforme elevada correlação negativa verificada entre FR e índice de clorofila ($R=-0,75$ a $-0,85$). Dessa forma, quanto menor for a área foliar e os índices de clorofila, menor será a eficiência de interceptação, conversão da radiação interceptada em fitomassa, e, da eficiência de partição de assimilados à estrutura de interesse econômico (SANGOI et al., 2002; FORSTHOFER et al., 2006). De acordo com Uhart e Andrade (1995), a redução da atividade fisiológica das principais fontes produtoras de carboidratos, causadas pela diminuição da área foliar, na fase reprodutiva, interfere na redistribuição de fotoassimilados dentro da planta, alterando, dessa maneira, a velocidade e intensidade da senescência foliar, e, nos padrões de acúmulo de carboidratos nos colmos.

Em relação a interferência do nematoide-das-galhas na porcentagem de sólidos presentes dissolvidos em água das plantas de cana-de-açúcar inoculadas com o nematoide-das-galhas, verificou-se correlação negativa ($R=-0,65$), havendo uma redução média de 3,5 °Brix comparativamente a testemunha sem nematoides. Tal fato pode representar perdas consideráveis da ordem de R\$ 1,95 mil por hectare, afetando sobremaneira o preço pago pela produção.

Já a redução do teor de sacarose aparente do caldo (POL) e o aumento nos teores de açúcares redutores do caldo das plantas de cana-de-açúcar infectadas por *Meloidogyne* spp. podem representar perdas de qualidade tanto na produção de álcool como de açúcar. Dessa forma, o primeiro mede a porcentagem de sacarose obtida em uma solução, e, quanto maior este teor, maior é a recuperação de açúcar ou etanol no final do processo industrial (CONSECANA, 2006). Já os açúcares redutores, são formados por glicose e frutose, onde, sua presença em taxas elevadas, influenciam direta e negativamente a quantidade e qualidade do produto (FERNANDES, 2003). Em outro patossistema, a inoculação de plantas de café com *M. exigua* e *M. paranaensis*, afetou o conteúdo de carboidratos em tecidos não infectados,

demonstrando que o nematoide é capaz de atuar como dreno metabólico não somente na galha ou região de engrossamento, mas também nas áreas distantes do ponto de infecção (GOULART, 2011). Provavelmente essa alteração na partição dos carboidratos parece estar ligada à espécie do nematoide (CARNEIRO et al., 1999) e ao nível populacional (GOULART, 2011). Em trabalho realizado no patossistema batata x *M. javanica*, verificou-se que a presença do nematoide aumentou a porcentagem de açúcares redutores nos tubérculos infectados, que conseqüentemente, pode ter sido o principal fator que influenciou o escurecimento da batata na hora da fritura (SCHAFER, 2015).

Quanto ao aumento nos teores de fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, lignina, celulose e hemicelulose, observados nas plantas inoculadas com *Meloidogyne* spp., tais incrementos refletem diretamente na digestibilidade da cana-de-açúcar, quando estas são destinadas para a alimentação animal. Dessa forma, os níveis de fibra em detergente neutro são importantes na escolha de genótipos de cana-de-açúcar destinadas a essa função, estando diretamente relacionada com o consumo. Corrêa et al. (2003) estudando o potencial da cana-de-açúcar em dietas para vacas leiteiras, observaram queda no consumo a partir da segunda semana de fornecimento da dieta contendo cana-de-açúcar, evidenciando, assim, o enchimento do trato digestivo com fibra em detergente neutro de baixa digestibilidade. Já a fibra em detergente ácido está contida no FDN, pois representa as frações celulose e lignina, sendo a última, a fração não digestível da planta. Quanto maior o teor de FDA menor a qualidade e a digestibilidade da cana-de-açúcar. Nesse sentido, a infecção das plantas de cana-de-açúcar pelo nematoide-das-galhas além de reduzir a produção de massa verde, pode também interferir na digestão e aproveitamento da cana-de-açúcar pelo animal, resultando em perdas em produção de leite ou carne.

Para reduzir o dano provocado pelos nematoides-das-galhas, o emprego de nematicidas é a estratégia de controle mais utilizada em canaviais afetados por fitonematoides, contribuindo assim, para o aumento da produtividade da cana-de-açúcar (MOURA, 1995), principalmente por ocasião da colheita (NOVARETTI et al., 1985; DINARDO-MIRANDA et al., 1995). Em um estudo sobre o comportamento de variedades em campos infestados por *M. javanica*, o uso de nematicida resultou em acréscimos de produtividade da ordem de 15% para dois genótipos suscetíveis, SP79-1011 e RB72454 (DINARDO-MIRANDA et al., 1995). Também em áreas infestadas

por *M. incognita*, a redução das populações do nematoide, pelo emprego de nematicidas, resultou em aumentos médios de produtividade da ordem de 50%, chegando a 118% para o genótipo SP71-799 (NOVARETTI et al., 1985). Gracia et al. (1970), também trabalhando em áreas infestadas por *M. incognita*, observaram aumentos de produtividade de até 40% devido a aplicação de nematicidas, sendo no genótipo RB72454 um incremento de 30%. Além disso, o uso de nematicida juntamente com uma variedade tolerante a *Meloidogyne* spp, poderia reduzir o número e a quantidade de nematicida aplicado. No entanto, o efeito desses produtos pode ser limitado (MOURA; MACEDO, 1997), além de representarem sérios riscos à saúde humana e ao meio ambiente (PEASE et al., 1995; GOMES et al., 2016).

Aliados aos nematicidas, a utilização de produtos à base de piraclostrobina, pode ser uma alternativa, pois em trabalhos realizados em áreas infestadas com *M. incognita*, têm evidenciado aumento de produtividade agrícola provavelmente pela indução de resistência (CHAVES et al., 2016b). Outra tática de manejo que pode ser utilizada é o emprego da rotação com culturas com amendoim, crotalárias, guandu, mucunas e labe-labe, que podem ser consideradas no controle desses patógenos, dependendo do nematoide alvo, durante o período de que ocorrerá a renovação do canavial (STIRLING et al., 2002; MOURA, 2010; STIRLING et al., 2011a). Somada a essa tática de manejo, a incorporação de resíduos orgânicos e o revolvimento do solo (STIRLING et al., 2011b; CHAVES et al. 2016c), e controle biológico (CADET et al. 2004) parecem ser boas alternativas para as áreas infestadas, para se diminuir o a população inicial do nematoide e conseqüentemente os danos causados.

4.3.3 Patogenicidade de outras espécies de *Meloidogyne* spp. em cana-de-açúcar

De acordo com os dados obtidos nesse estudo, verificou-se que todas espécies de *Meloidogyne* avaliadas, foram capazes de se multiplicarem nas diferentes variedades de cana-de-açúcar testada, causarem danos, e, assim, afetarem negativamente o desenvolvimento das plantas inoculadas (Tabelas 35 a 38).

Na avaliação da patogenicidade de *M. luci* em 'RB946903', verificou-se que o genótipo inoculado foi suscetível e apresentou danos nas raízes conforme valores de FR, e elevado número de galhas e densidade populacional do nematoide nas raízes (Tabela 35). Plantas de cana-de-açúcar inoculadas com esta espécie apresentaram

menor desenvolvimento quando comparadas com aquelas plantas não inoculadas do mesmo genótipo, sendo observado uma redução de 55, 69, 57, 64 e 61% para a massa da parte aérea e da raiz, diâmetro do colmo, número de perfilhos e área foliar, respectivamente.

Tabela 35 – Efeitos da inoculação de *Meloidogyne luci* e *Meloidogyne enterolobii* no desenvolvimento de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e na sua reprodução sobre a cultura, em casa de vegetação.

Genótipo	<i>M. luci</i>				<i>M. enterolobii</i>			
	RB946903				RB935581			
	Sem	Com		CV (%)	Sem	Com		CV (%)
MFSR (g)	216,7*	96,6	(-55)	23,4	228,9*	101,1	(-56)	25,6
MFPA (g)	247,2 *	76,8	(-69)	25,4	396,5*	145,5	(-63)	21,7
DC (mm)	26,6*	11,5	(-57)	17,8	22,3*	11,9	(-47)	23,2
AP (cm)	155,6*	135,0	(-13)	15,4	215,7*	176,5	(-18)	21,7
NP	3,5*	1,3	(-64)	18,7	3,8*	2,3	(-39)	15,8
AF (cm ² planta ⁻¹)	472,4*	186,0	(-61)	21,3	444,0*	180,2	(-59)	26,5
NG	-	1300,8	-	-	-	2557,9	-	-
NNGR	-	788,0	-	-	-	2446,8	-	-
FR	-	15,2	-	-	-	49,5	-	-

MFSR: Massa fresca do sistema radicular; MFPA: Massa fresca da parte aérea; DC: Diâmetro do colmo; AP: Altura de plantas; NP: Número de Perfilho; AF: Área foliar; NG: Número de galhas; NNGR: Número de nematoides (ovos + J2) por grama de raiz; FR: Fator de reprodução. * e ^{ns}, significativo e não significativo, respectivamente, pelo teste de t ($p \leq 0,05$), comparando-se plantas inoculadas e não inoculadas. CV = Coeficiente de Variação.

Já para *M. enterolobii*, o fator de reprodução foi de aproximadamente 50 no genótipo RB935581, apresentando elevado número de galhas e de nematoides por grama de raiz (Tabela 35). O desenvolvimento das plantas de cana-de-açúcar foi também afetado na presença do patógeno, sendo observadas reduções nos parâmetros de desenvolvimento como massa da parte aérea, massa do sistema radicular, diâmetro do colmo e área foliar, da ordem de 47 a 63% (Tabela 36).

Analisando os parâmetros de desenvolvimento das plantas inoculadas com *M. morocciensis* (Tabela 36), percebeu-se uma redução significativa para as variáveis estudadas, sendo as maiores reduções observadas para massa fresca da parte aérea (67%), diâmetro do colmo (52%) e área foliar (56%), mesmo com um fator de reprodução do nematoide de 10,2, que foi o índice de reprodução mais baixo quando comparado com as demais espécies estudadas.

Tabela 36 – Efeitos da inoculação de *Meloidogyne morocciensis* e *Meloidogyne hapla* no desenvolvimento de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e na sua reprodução sobre a cultura, em casa de vegetação.

Genótipo	<i>M. morocciensis</i>				<i>M. hapla</i>			
	RB855156				RB845057			
	Sem	Com		CV (%)	Sem	Com		CV (%)
MFSR (g)	185,2*	93,8	(-49)	21,3	290,0*	105,7	(-64)	18,9
MFPA (g)	268,5*	88,6	(-67)	26,6	432,4*	135,7	(-69)	26,5
DC (mm)	26,0*	12,5	(-52)	15,4	26,4*	11,3	(-57)	16,9
AP (cm)	182,7*	125,0	(-32)	17,7	226,7*	132,9	(-41)	24,6
NP	4,0*	2,3	(-44)	19,0	2,8*	1,9	(-34)	14,6
AF (cm ² planta ⁻¹)	460,9*	204,7	(-56)	19,5	535,5*	198,3	(-63)	22,3
NG	-	1025,8	-	-	-	239,9	-	-
NNGR	-	544,3	-	-	-	662,2	-	-
FR	-	10,2	-	-	-	14,0	-	-

MFSR: Massa fresca do sistema radicular; MFPA: Massa fresca da parte aérea; DC: Diâmetro do colmo; AP: Altura de plantas; NP: Número de Perfilho; AF: Área foliar; NG: Número de galhas; NNGR: Número de nematoides (ovos + J2) por grama de raiz; FR: Fator de reprodução. * diferença significativa pelo teste de t ($p \leq 0,05$), comparando-se plantas inoculadas (com) e não inoculadas (sem); CV = Coeficiente de Variação.

Na avaliação das plantas de cana ‘RB845057’ inoculadas com *M. hapla*, apesar de terem se comportado como suscetíveis, verificou-se o número de galhas foi o mais baixo em comparação com as demais espécies de *Meloidogyne* testadas (Tabela 36), no entanto, grandes reduções da massa da parte aérea (69%) e do sistema radicular (64%), e, da área foliar (63%), foram observadas.

Analisando-se os testes com as populações de *M. arenaria* Est. A2 e A1, embora a variedade de cana-de-açúcar utilizada tenha se comportado com suscetível, verificou-se uma diferença de mais de duas vezes na reprodução do nematoide, com o fenótipo A2. Entretanto, independentemente do da taxa de multiplicação, ambas populações de *M. arenaria* afetaram o desenvolvimento vegetativo das plantas (Tabela 37). A redução foi de 41 e 67% para o peso do sistema radicular quando comparados com as plantas não inoculadas. Além disso, verificou um decréscimo de 62 e 70% para a massa fresca da parte aérea, em média de 70% na área foliar das plantas inoculadas

Tabela 37 – Efeitos da inoculação de *Meloidogyne arenaria* (Est. A2 e A1) no desenvolvimento de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e na sua reprodução sobre a cultura, em casa de vegetação.

Genótipo	<i>M. arenaria</i> (A2)				<i>M. arenaria</i> (A1)			
	RB966928				RB867515			
	Sem	Com		CV (%)	Sem	Com		CV (%)
MFSR (g)	255,2*	151,2	(-41)	23,5	398,5*	131,6	(-67)	20,5
MFPA (g)	404,5*	154,9	(-62)	21,8	382,8*	113,4	(-70)	23,3
DC (mm)	27,2*	12,8	(-53)	15,9	27,7*	13,2	(-52)	15,9
AP (cm)	199,2*	172,9	(-13)	18,8	189,3*	162,3	(-14)	24,5
NP	3,5*	1,8	(-50)	14,6	4,5*	2,0	(-56)	18,8
AF (cm ² planta ⁻¹)	466,9*	129,5	(-72)	25,3	499,0*	158,9	(-68)	24,7
NG	-	2498,7	-	-	-	1724,7	-	-
NNGR	-	1670,8	-	-	-	757,7	-	-
FR	-	50,5	-	-	-	19,9	-	-

MFSR: Massa fresca do sistema radicular; MFPA: Massa fresca da parte aérea; DC: Diâmetro do colmo; AP: Altura de plantas; NP: Número de Perfilho; AF: Área foliar; NG: Número de galhas; NNGR: Número de nematoides (ovos + J2) por grama de raiz; FR: Fator de reprodução. * diferença significativa pelo teste de t ($p \leq 0,05$), comparando-se plantas inoculadas (com) e não inoculadas (sem); CV = Coeficiente de Variação.

Tabela 38 – Efeitos da inoculação de *Meloidogyne ethiopica* no desenvolvimento em genótipo de cana-de-açúcar e na sua reprodução sobre a cultura, em casa de vegetação.

Genótipo	<i>M. ethiopica</i>			
	RB72454			
	Sem	Com		CV (%)
MFSR (g)	656,3*	152,3	(-77)	27,6
MFPA (g)	359,0*	87,7	(-76)	25,7
DC (mm)	27,8*	16,3	(-42)	17,4
AP (cm)	211,7*	172,0	(-19)	21,8
NP	4,0*	1,5	(-63)	18,4
AF (cm ² planta ⁻¹)	416,9*	178,9	(-57)	23,7
NG	-	1432,5	-	-
NNGR	-	546,1	-	-
FR	-	16,6	-	-

MFSR: Massa fresca do sistema radicular; MFPA: Massa fresca da parte aérea; DC: Diâmetro do colmo; AP: Altura de plantas; NP: Número de Perfilho; AF: Área foliar; NG: Número de galhas; NNGR: Número de nematoides (ovos + J2) por grama de raiz; FR: Fator de reprodução. * diferença significativa pelo teste de t ($p \leq 0,05$), comparando-se plantas inoculadas (com) e não inoculadas (sem); CV = Coeficiente de Variação.

E, nas plantas de cana-de-açúcar do genótipo RB72454, inoculadas com *M. ethiopica*, além da suscetibilidade do genótipo e danos nas raízes, a referida espécie

afetou negativamente o desenvolvimento vegetativo das plantas como pode ser verificado na tabela 38 e na figura 8, sendo a massa do sistema radicular e da parte aérea e área foliar, os parâmetros mais afetados, cujas reduções foram de 77, 76 e 57% respectivamente (Tabela 38).

De acordo com os resultados observados no presente estudo, *M. luci*, *M. enterolobii*, *M. morocciensis*, *M. hapla*, *M. arenaria* (Est. A2 e A1) e *M. ethiopica* foram patogênicas à cana-de-açúcar e afetaram o desenvolvimento das plantas, conforme já abordado. Entretanto, na literatura, poucos são os registros de estudos de patogenicidade do nematoide-das-galhas na cultura em estudo.

Nesse sentido, Bellé (2014) observou ocorrência de *M. luci*, *M. hapla*, *M. ethiopica* e *M. morocciensis* (Capítulo 1) em cana-de-açúcar, cujos relatos foram os primeiros no Brasil e no mundo. Já para *M. enterolobii*, Moura et al. (2012) detectaram sua presença, pela primeira vez, em levantamentos realizados em canaviais do estado de Pernambuco. Os valores do fator de reprodução para *M. enterolobii* observados neste trabalho, são superiores com os valores verificados por Marques et al. (2012) para os genótipos RB867515, RB956911, RB92579 e SP801816, os quais constataram valores de FR do nematoide variando entre 1,89 a 5,6, sendo estes inferiores ao observado nesse estudo. Contrariamente, Silva et al. (2012) avaliando a suscetibilidade das variedades de cana-de-açúcar RB92579, RB863129, SP81-3250 e RB867515 a *M. enterolobii*, verificaram que as mesmas comportaram-se como resistentes ao nematoide. Esta variação pode estar ligada a origem das populações *M. enterolobii*, uma vez que Marques et al. (2012) e Silva et al. (2012) utilizaram populações advindas da goiabeira.

Em relação a *M. ethiopica*, os testes conduzidos neste trabalho são importantes não só para a cana-de-açúcar, mas também para outras culturas que podem ser utilizadas em rotação. Este nematoide caracteriza-se por ser uma espécie polífaga e que se multiplica em plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas, parasitando, pelo menos, 80 diferentes espécies vegetais, incluindo culturas economicamente importantes (EPPO, 2011). *Meloidogyne ethiopica* tem sido detectado em diversos países da América do Sul e tem sido associado ao declínio da videira, quivi e tomateiro, dentre outras culturas (CARNEIRO et al., 2003; CARNEIRO et al., 2007). Recentemente, Pinheiro et al. (2014) encontraram essa espécie na cultivar de tomateiro Paronse, portador do gene *Mi*, em cultivo protegido em Santa Catarina, na cultivar 'Cereja Vermelho' e em material experimental de campo, em Minas Gerais e

no Distrito Federal, o que reforça a necessidade de investigar a resistência em outros genótipos de cana-de-açúcar a *M. ethiopica*.



Figura 8 - Redução no desenvolvimento de planta de cana-de-açúcar var. RB72454 infectada com *Meloidogyne ethiopica*, em casa de vegetação, planta da direita com *M. ethiopica* e da esquerda sem o nematoide.

Além dos testes habituais de avaliação da suscetibilidade de materiais genéticos de cana-de-açúcar a *M. incognita* e *M. javanica*, avaliações da resistência deveriam envolver também *M. arenaria*, considerando-se a frequência que esta espécie vem sendo assinalada no Brasil e pelo potencial de danos conforme verificado no presente estudo. *Meloidogyne arenaria* tem sido detectado em lavouras de cana-

de-açúcar, sendo a frequência neste estudo (Capítulo 1) de, aproximadamente, 19% das áreas amostradas. Moura et al. (2009) verificaram, em Pernambuco, a presença de *M. arenaria* em aproximadamente 40% das amostras de cana-de-açúcar analisadas. Recentemente, Bellé (2014) e Noronha et al. (2017) também verificaram a presença desta espécie em canaviais de outras regiões do Rio Grande do Sul (14%) e de Alagoas (16%), respectivamente.

A patogenicidade de *M. luci* em cana-de-açúcar também reflete sua importância para a cultura, uma vez que recentemente foi detectada em canaviais gaúchos das cidades de Três Passos (BELLÉ, 2014) e de Santo Antônio da Patrulha, Caxias do Sul e Santa Maria (Capítulo 1). Embora seja uma espécie descrita recentemente, também já foi detectada em lavanda, quivi, pepino, alface, brócolis, quiabo, feijão vagem e yacon (CARNEIRO et al., 2000; CARNEIRO et al. 2008; SOMAVILLA et al. 2011) e em videira no Chile (CARNEIRO et al. 2007), o que reforça o cuidado no uso dessas espécies plantas em rotação com a cana-de-açúcar.

Em relação as espécies *M. morocciensis* e *M. hapla*, embora tenham sido detectadas em baixa frequência nos levantamentos realizados, apresentam potencial para reprodução na cultura, e conseqüentemente, podem causar danos na mesma (BELLÉ, 2014; Capítulo 1). No entanto estudos adicionais ao nível de campo com essas e com as demais espécies avaliadas nesses trabalhos são necessários para estabelecer o seu real impacto no desenvolvimento de plantas e na produção de cana-de-açúcar.

4.4 Conclusões

Os genótipos de cana-de-açúcar avaliados apresentam diferentes níveis de suscetibilidade a *M. incognita* e *M. javanica*.

Meloidogyne incognita, *M. javanica* e *M. arenaria* influenciam negativamente o desenvolvimento das plantas de cana-de-açúcar da variedade RB867515.

Nas condições que foi realizado este estudo, *M. luci*, *M. enterolobii*, *M. morocciensis*, *M. hapla*, *M. arenaria* e *M. ethiopica* se reproduzem em cana-de-açúcar (FR>1,00), causam danos nas raízes e afetam negativamente o desenvolvimento da cultura.

5 CONCLUSÕES GERAIS

Meloidogyne incognita é a espécie mais frequente na cultura da cana-de-açúcar em amostras coletadas nas regiões da Serra Gaúcha, Litoral Norte, Central e Sul do Rio Grande do Sul;

Nas condições em que foi conduzido o estudo, detectou-se baixa variabilidade intraespecífica entre as populações de *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria* utilizando-se marcadores RAPD;

Existem populações de *M. javanica* e *M. incognita* mais agressividade à cultura da cana-de-açúcar, as quais afetam negativamente diferentes parâmetros de desenvolvimento das plantas parasitadas;

Há suscetibilidade diferenciada dos genótipos de cana-de-açúcar a *Meloidogyne* spp.;

Meloidogyne ethiopica, *M. luci*, *M. hapla*, *M. arenaria*, *M. morocciensis* e *M. enterolobii* são patogênicas à cana-de-açúcar.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. Plant diseases caused by nematodes. In: AGRIOS, G. N. (Ed.) **Plant Pathology**. 5 ed. London: Academic Press, 2005. p. 825-874.

AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons Acesso em: 24 jan. 2018

ALMEIDA, E. J.; SOARES, P. L. M.; SANTOS, J. M.; MARTINS, A. B. G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba (*Psidium guajava*) no Estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, v. 30, p. 112-113, 2006.

ALMEIDA, E. J.; SOARES, P. L. M.; SILVA, A. R.; SANTOS, J. M. Novos registros sobre *Meloidogyne mayaguensis* no Brasil e estudo morfológico comparativo com *M. incognita*. **Nematologia Brasileira**, v.32, p.236-241, 2008.

ALMEIDA, E.J.; ALVES, G.C.S.; SANTOS, J.M.; MARTINS, A.B.G. Assinalamentos de *Meloidogyne enterolobii* em goiabeira e em plantas invasoras no estado de São Paulo, Brasil. **Nematologia Brasileira**,v.35, p. 50-52, 2011.

ANJOS, I. A. dos; SILVA, D. N.; CAMPANA, M. P. Cana-de-açúcar como forrageira. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. **Cana-de-açúcar**. Ribeirão Preto: IAC. 2008. p. 725-745.

ARAUJO-FILHO, J.V.; MACHADO, A. C. Z.; DALLAGNOL, L. J.; ARANHA - CAMARGO, L. E. Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.) parasitizing resistant tobacco cultivars in southern Brazil. **Plant Disease**, v. 100, p. 1222-1231, 2016.

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

ASMUS, G. L.; VICENTINI, E. M.; CARNEIRO, R. M. D. G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira, no Estado de Mato Grosso do Sul. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 112, 2007.

ASMUS, G.L.; FERRAZ, L.C.C.B.; GLÓRIA, B.A. Alterações anatômicas em raízes de milho (*Zea mays* L.) parasitadas por *Meloidogyne javanica*. **Nematropica**, v. 30, p.33-39, 2000.

ASSUNÇÃO, A.; SANTOS, L. C.; ROCHA, M. R.; REIS, A. J. S.; TEIXEIRA, R. A.; LIMA, F. S. O. Efeito de indutores de resistência sobre *Meloidogyne incognita* em cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Nematologia Brasileira**, v. 34, n. 1, p. 56-62, 2010.

BALOGUN, O.S.; BABATOLA, J.O. Pathogenicity of *Meloidogyne incognita* on *Corchorus olitorius*. **Nematologia Mediterranea**, v. 18, p. 23-25, 1990.

BARBOSA, B. E. F.; SANTOS, J. M.; SOARES, P. L. M.; BARBOSA, J. C. Avaliação comparativa da agressividade de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* à variedade SP911049 de cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 33, n. 3, p. 243-247, 2009.

BARBOSA, B. F. F.; SANTOS, J. M.; BARBOSA, J. C.; SOARES, P. L. M.; RUAS, A. R.; CARVALHO, R. B. Aggressiveness of *Pratylenchus brachyurus* to sugarcane, compared with key nematode *P. zaei*. **Nematropica**, v. 43, p. 119-130, 2013.

BARROS, A.C.B. **Estudos sobre o uso do nematicida sistêmico Terbufos em cana-de-açúcar: avaliações na cana planta**. (Dissertação de Mestrado). Recife. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2000.

BARROS, A.C.B.; MOURA, R.M.; PEDROSA, E.M.R. Efeito da aplicação de terbufos nas populações de três nematóides ectoparasitos em cana-de-açúcar. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 309-311, 2002.

BARROS, A.C.B.; MOURA, R.M.; PEDROSA, E.M.R. Estudo de interação variedade-nematicida em cana-de-açúcar, em solo naturalmente infestado por *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Pratylenchus zaei*. **Nematologia Brasileira**, v. 29, p. 39-46, 2005.

BARROS, F. C.; SAGATA, E.; FERREIRA, L. C. C.; JULIATTI, F. C. Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. **Bioscience Journal**, V. 26, n. 2, p. 231-239, 2010.

BELLÉ, C. **Fitonematoides na cultura da cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul: levantamento, caracterização e reação de genótipos a *Meloidogyne javanica* e *Pratylenchus zaei***. 2014. 106 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Agricultura e Ambiente) - Universidade Federal de Santa Maria, Frederico Westphalen, 2014.

BELLÉ C.; KULCZYNSKI, S. M.; GOMES, C. B.; KUHN, P. R. Fitonematoides associados à cultura da cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul, Brasil. **Nematropica**, v. 44, p. 207-217, 2014.

BELLÉ, C.; KULCZYNSKI, S. M.; KUHN, P. R.; DONIN, L. P.; GOMES, C. B. Reaction of sugarcane genotypes to parasitism of *Meloidogyne javanica* and *Pratylenchus zeae*. **Revista Caatinga**, v. 30, p. 530-535, 2017.

BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Funep: Jaboticabal. 42 p. 1988.

BERNARD, E. C.; POE, J. P. Plant Parasitic Nematodes. In: OWNLEY, B. H.; TRIGIANO, R. N. (Eds.). **Plant Pathology, concepts and laboratory exercises**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press: Taylor in France Group, 2017. p. 103-118.

BERRY, S.D.; FARGETTE, M.; SPAULL, V.W.; MORAND, S.; CADET, P. Detection and quantification of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*), lesion nematode (*Pratylenchus zeae*) and dagger nematode (*Xiphinema elongatum*) parasites of sugarcane using real-time PCR. **Molecular and Cellular Probes**, v. 22, p. 168–176, 2008.

BHUBANANANDA, D.; PRASAD, J. Photosynthetic rate in rice as influenced by the root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola*, infection. **Revue de Nematologie**, v. 12, p. 431-432, 1989.

BIRD, A.F. Plant response to root-knot nematode. **Annual Review of Phytopathology**, v. 12, p. 69-85, 1974.

BISOGNIN, A.C. **Caracterização morfológica e agressividade de populações de *Pratylenchus* spp. do Rio Grande do Sul em cana-de-açúcar e manejo de fitonematoides na cultura pelo emprego de rizobactérias**, 2017. 93f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Agricultura e Ambiente) - Universidade Federal de Santa Maria, Frederico Westphalen, 2017.

BLAIR, B.; STIRLING, G.R.; WHITTLE, P. Distribution of pest nematodes on sugarcane in south Queensland and relationship to soil texture, cultivar, crop age and region. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 39, p. 43–49, 1999.

BLAIR, B.L.; STIRLING, G.R. The role of plant-parasitic nematodes in reducing the yield of sugarcane in fine-textured soils in Queensland, Australia. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 47, p. 620–634, 2007.

BLOCK, V. C.; PHILLIPS, M. S.; McNICOL, J. W. FARGETTE, M. Genetic variation in tropical *Meloidogyne* spp. as shown by RAPDs. **Fundamental and Applied Nematology**v.20, p.127-133, 1997.

BLOK, V.; PHILLIPS, M.; FARGETTE, M. Comparison of sequences from the ribosomal DNA intergenic region of *Meloidogyne mayaguensis* and other major tropical root-knot nematodes. **Journal of Nematology** v. 29, p. 16–22, 1997.

BLOK, V.C.; POWERS, T. O. Biochemical and molecular identification. *In*: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. (Org.). **Root-knot nematodes**. Lincoln: CABI, 2009. P. 98–112.

BONETTI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.6, p.553, 1981.

BRAGA-JUNIOR, R. L. C.; LANDELL, M. G. A.; SILVA, D. N.; BIDÓIA, M. A. P.; SILVA, T. N.; THOMAZINHO JÚNIOR, J. R.; SILVA, V. H. P. Censo varietal IAC de cana-de-açúcar na região Centro-Sul do Brasil – safra 2016/17. **Boletim Técnico IAC**, n. 217, p. 1-47, 2017.

BRUM, D. **Fitonematoides nas culturas do arroz irrigado e do morangueiro: biocontrole, promoção de crescimento, agressividade de populações e reação de cultivares**, 2017. 112f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

CADET, P.; SPAULL, V. Nematode parasites of sugarcane. In LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds.). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford: CAB International, 2. ed, 2005. p. 645-674.

CADET, P.; GUICHAOUA, L.; SPAULL, V.W. Nematodes, bacterial activity, soil characteristics and plant growth associated with termitaria in a sugarcane field in South Africa. **Applied Soil Ecology**, v. 25, p. 193–206, 2004.

CARNEIRO, R. G.; MAZZAFERA, P.; FERRAZ, L. C. C. B. Carbon partitioning in soybean infected with *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. **Journal of Nematology**, v. 31, p. 348-355, 1999.

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

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

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; GIORIA, R. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* parasitando plantas de tomate e pimentão resistentes os nematóides de galhas no Estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, v. 30, p. 81-86, 2006.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; MARTINS, I.; FREITAS, J.; PIRES, A.Q.; TIGANO, M. Ocorrência de *Meloidogyne* spp. e fungos nematófagos em hortaliças no Distrito Federal, Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 32, p. 135-141, 2008.

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

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; GIORIA, R. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* parasitando plantas de tomate e pimentão resistentes aos nematóides de galhas no Estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, v. 30, p. 81-86, 2006.

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

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; QUÉNHERVÉ, P. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* spp. populations. **Nematology**, v. 2, n.6, p. 645-654, 2000.

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

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

CARNEIRO, R. M. D. G.; RANDIG, O.; ALMEIDA, M. R. A.; GONÇALVES, W. . Identificação e caracterização de espécies de *Meloidogyne* em cafeeiro nos estados de São Paulo e Minas Gerais através dos fenótipos de esterase e SCAR-Multiplex-PCR. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n.2, p. 233-242, 2005.

CARNEIRO, R. M. D. G.; RANDING, O.; ALMEIDA, M. R. A.; GOMES, A. C. M. M. Additional information on *Meloidogyne ethiopica* Whitehead, 1968 (Thylenchida: Meloidogynidae) a root-knot nematode parasitising kiwi fruit and grape-vine from Brazil and Chile. **Nematology**. v.6, p.109-123, 2004a.

CARNEIRO, R. M. D. G.; SANTOS, M. F. A.; ALMEIDA, M. R. A.; MOTA, F. C.; TIGANO, M. S. Diversity of *Meloidogyne arenaria* using morphological, cytological and molecular approaches. **Nematology**, v.10, p.819-814, 2008.

CARNEIRO, R.G. **Efeitos de *Meloidogyne incognita* raça 3 e *M. javanica* sobre a absorção e translocação de nitrogênio, fósforo e cálcio e sobre a partição de carbono em cultivares de soja**. 2000. 96 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

CARNEIRO, R.G.; MAZAFFERA, P. Relação fonte-dreno e absorção e transporte de minerais em plantas infectadas por nematoides. In: SILVA, J.F.V. **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina: Embrapa Soja: Sociedade Brasileira de Nematologia, p. 63-93. 2001.

CARNEIRO, R.G.; MAZZAFERA, P.; FERRAZ, L.C.C.B. Carbon partitioning in soybean infected with *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. **Journal of Nematology**, v.31, n.3, p.348-355, 1999.

CARNEIRO, R.M.D.G.; COFCEWICZ, E.T. Taxonomy of coffee-parasitic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. In: SOUZA R.M. (ed.). **Plant parasitic nematodes of coffee**. Springer: Holand, p. 87-122, 2008.

CARNEIRO, R.M.D.G.; TIGANO, M.S.; RANDIG, O.; ALMEIDA, M.R.A.; SARAH, J.L. Identification and genetic diversity of *Meloidogyne* spp. (Thylenchida: Meloidogynidae) on coffee from Brazil, Central America and Hawaii. **Nematology**, v.6, p.287-298, 2004b.

CARNEIRO, R. M. D. G.; MONTEIRO, J. da M. dos S; SILVA, U. C.; GOMES, G. Gênero *Meloidogyne*: diagnose através de eletroforese de isoenzimas e marcadores

SCAR. In: OLIVEIRA, C.M.G.; SANTOS, M.A.; CASTRO, L.H.S. **Diagnose de fitonematoides**. Campinas: Millennium Editora, 2016. Cap.3, p.47-72.

CASTAGNONE-SERENO, P.; WANLERBERGHE-MASSUTTI, F.; LEROY, F. Genetic polymorphism between and within *Meloidogyne* species detected with RAPD markers. **Genome**, v.37, p. 904-909, 1994.

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

CESNIK, R.; MIOCQUE, J. **Melhoramento de cana-de-açúcar**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 31-40, 2004.

CHAVES, A. F. P.; PEDROSA, E. M. R.; GUIMARÃES, L. M. P.; MARANHÃO, S. R. V. L. Panorama atual dos estudos sobre nematoides em cana-de-açúcar no Nordeste Brasileiro. In: Congresso Brasileiro de Nematologia, 33., Petrolina (PE). Anais. p.86-87, 2016c.

CHAVES, A.; MARANHÃO, S. R. V. L.; PEDROSA, E. M.; GUIMARÃES, L. M. P. Incidência de *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* sp. em cana-de-açúcar no Estado de Pernambuco. **Nematologia Brasileira**, v. 33, p. 345-349, 2009.

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

CHAVES, A.; PEDROSA, E. M. R.; MELO, L. J. O. Efeito de carbofuran, torta de filtro e variedades sobre a densidade populacional de fitonematoides em áreas com mau desenvolvimento da cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 28, p. 101-103, 2004.

CHAVES, A.; PEDROSA, E. M. R.; MOURA, R. M. Efeitos da aplicação de terbufos sobre a densidade populacional de fitonematoides endoparasitos em cinco variedades de cana-de-açúcar no Nordeste. **Nematologia Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 167-176, 2002.

CHAVES, A.; PEDROSA, E. M. R.; WILADINO, L. G.; CARDOSO, M. S. O. Activation of resistance to *Meloidogyne incognita* in sugarcane treated with pyraclostrobin. **Nematoda**, v.3, p.1 - 7, 2016b.

CHAVES, A; PEDROSA, E. M. R.; SIMOES NETO, D. E. Nematoses da cana-de-açúcar In: SIMÕES NETO, D.; GARCIA, J. F. **Cana-de-açúcar: pragas e doenças - Desafios fitossanitários e manejo sustentável**. 4 ed. Jaboticabal: Multipress Ltda, 2016a, v.4, p. 127-142.

CHIRCHIR, A. K.; JOHN, W. K.; EMMANUEL, S. A.; GEORGE, M. K.; CHRISPINE, O. O. Reaction of sugarcane genotypes to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Kenya. **International Journal of Agricultural Policy and Research**, v3, p. 260-266, 2015.

CIRRINICIONE, P.; TEFFT, P.M.; SPRINGER, C.J. The effect of early soybean cyst nematode infection on soybean growth and physiology. **Journal of Nematology**, v. 41, n. 4, p. 319, 2009.

COFCEWICZ, E. T. **Diversidade de populações de *Meloidogyne* spp. em bananeiras no Brasil e nas Antilhas e sua patogenicidade a cultivares de *Musa* spp.**2003. 97f. Tese (Doutorado em Friticultura) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2003.

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

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

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, segundo levantamento, março/2017**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_02_23_17_34_53_boletim_cana_portugues_-_3o_lev_-_15-17.pdf> Acesso em: 02 dez. 2017.

CONCEIÇÃO, I. L.; TZORTZAKAKIS, E.A.; GOMES, P.; ABRANTES, I.; CUNHA, M.J. Detection of root-knot nematode *Meloidogyne ethiopica* in Greece. **European Journal of Plant Pathology**, v.134, p.451-457, 2012.

CONSECANA - Conselho dos Produtores de Cana-de-açúcar, Açúcar, Álcool do Estado de São Paulo. **Manual de instruções**. 5.ed. Piracicaba: CONSECANA, 2006. 112p.

CORRÊA, C.E.S.; PEREIRA, M.N.; OLIVEIRA, S.G.; RAMOS, M.H., Performance of holstein cows fed sugarcane or corn silages of different grain textures. **Scientia Agrícola**, v. 60, n.4, p. 621-629, 2003.

CORREA, V. R.; SANTOS, M.F.A.; ALMEIDA, M. R. A.; PEIXOTO, J. R.; CASTAGNONE-SERENO, P.; CARNEIRO, R. M.D.G. Species-specific DNA markers for identification of two root-knot nematodes of coffee: *Meloidogyne arabicida* and *M. izalcoensis*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 136, p. on line-313, 2013.

CORREA, V.R.; MATTOS, V.S.; ALMEIDA, M.R.A.; SANTOS, M.F.A.; TIGANO, M.S.; CASTAGNONE-SERENO, P.; CARNEIRO, R.M.D.G. Genetic diversity of the root-knot nematode *Meloidogyne ethiopica* and development of a species-specific SCAR marker for its diagnosis. **Plant Pathology**, v. 63, p. 476–483, 2014.

CRUZ, C. D. **Programa Genes - Estatística Experimental e Matrizes**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. v. 1. 285 p.

CUNHA, T. G.; VISÔTTO, L. E.; LOPES, E. A.; OLIVEIRA, C. M. G.; GOOD-GOD, P. I V. Diagnostic methods for identification of root-knot nematodes species from Brazil. **Ciência Rural**, v.48. n. 02, p. e20170449, 2018

DÁVILA-NEGRÓN, M., DICKSON, D.W. Comparative thermal-time requirements constant temperatures. **Nematropica**, v. 43, p. 152–163, 2013.

DI VITO, M.; GRECO, N.; CARELLA, A. The effect of population densities of *Meloidogyne incognita* on the yield of cantaloupe and tobacco. **Nematologia Mediterranea**, v. 11, p. 169-174, 1983.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; SANTOS, D. A.; SOUTO, E. R.; BIELA, F.; CHIAMOLERA, F. M.; CUNHA, T. P. L.; SNATNA, S. M.; PUERARI, H. H. Reação de Variedades de Cana-de-açúcar aos Nematoides-das-galhas. **Nematologia Brasileira**, v. 34, n4, p. 198- 203, 2010.

DILLEWIJN, C. **Botany of sugar cane**. Walthen: Chronica Botanica, 1952. p.136-141. 359p.

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

DINARDO-MIRANDA, L. L. Efeito de carbofuran sobre a cana-de-açúcar infestada ou não por nematóides. **Summa Phytopathologica**, v. 27, n.4, p. 436-438, 2001.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Hospedabilidade de oito variedades de cana-de-açúcar a *Pratylenchus brachyurus* e *P. zaeae*. **Nematologia Brasileira**, v. 18, p. 67-72, 1994.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Manejo de nematoides em cana-de-açúcar. **JornalCana** v. 141, p. 64-69, 2005.

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

DINARDO-MIRANDA, L. L. Nematóides: vilões subterrâneos. **Caderno Técnico Cultivar**, p. 3–6, 30 abr. 2011.

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

DINARDO-MIRANDA, L. L. Hospedabilidade de oito variedades de cana-de-açúcar a *Pratylenchus brachyurus* e *P. zaeae*. **Nematologia Brasileira**, v. 18, p. 67-72, 1994.

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

DINARDO-MIRANDA, L. L.; GARCIA, V.; MENEGATTI, C. C. Controle químico de nematóides em soqueiras de cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 24, n.1, p. 55-58, 2000.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; GIL, M. A.; COELHO, A L ; GARCIA, V ; MENEGATTI, C C . Efeito da torta-de-filtro e de nematicidas sobre as infestações de nematóides e a produtividade da cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n.1, p. 61-68, 2003a.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; GIL, M. A.; MENEGATTI, C. C. Danos causados por nematóides a variedades de cana-de-açúcar em cana planta. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n.1, p. 69-74, 2003b.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; MENEGATTI, C. C.; PIVETTA, J. P. Eficiência de nematicidas aplicados no plantio da cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n.2, p. 171-174, 2001.

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

DINARDO-MIRANDA, L. L.; PIVETTA, J.P ; FRACASSO, J V . Influência da época de aplicação de nematicidas em soqueiras sobre as populações de nematóides e a produtividade da cana-de-açúcar. **Bragantia**, v. 67, p. 179-190, 2008.

DINARDO-MIRANDA, L.L. Nematóides e pragas de solo em cana-de-açúcar. **Potafós**, p. 25-32, 2005.

DOYLE, J.J.; DOYLE J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, p.13-15, 1990.

DUTTA, M.N.; NAYAK, S.K.; PRASAD, J.S. Influence of *Helicotylenchus multicinctus* on the chlorophyll content, photosynthetic rate and root activity in rice. **Nematologia Mediterranea**, v.18, n.1, p. 5-6, 1990.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. Brasília, 2013. 353p.

EPPO - European and Mediterranean Plant Protection Organization. Disponível em: <https://www.eppo.int/QUARANTINE/Alert_List/nematodes/Meloidogyne_ethiopica.htm> Acesso em: 02 de dez. 2017.

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

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

EVANS, A. A. F.; PERRY, R. O. Survival Mechanisms. In: PERRY, R.; MOENS, M.; STARR, J.L. (eds). **Root-knot Nematodes**. Cambridge, CABI International, p. 201-219, 2009.

EISENBACK, J.D.; TRIANTAPHYLLOU, H.H. Root-knot nematode: *Meloidogyne* spp. and races. In: NICKLE, W.R. (ed.). **Manual of Agricultural Nematology**. Marcel Dekker, New York, p. 191–274, 1991.

FASAN, T.; HAVERKORT, A. J. The influence of cyst nematodes and drought on potato growth.1. Effects on plant-growth under semi-controlled conditions. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v. 97, p. 151–161, 1991.

FELSENSTEIN, J. Phylogenies and the Comparative Method. **The American Naturalist**, v.125, n.1, p.1-15, 1985.

FERNANDES, A.C. **Cálculos na agroindústria da cana-de-açúcar**. Piracicaba: STAB, 2003. 240p.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M; FILHO, B. A. (Eds.). **Manual de fitopatologia: Princípios e conceitos**. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. v. 1. p. 277-305.

FERRAZ, L.C.C.B; MONTEIRO, A.R. Nematóides. In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**, v.1, 3 ed, São Paulo: Ceres, 1995. p.168-201.

FORSTHOFER, E.L.; SILVA, P.R.F. da; STRIEDER, M.L.; MINETTO, T.; RAMBO, L.; ARGENTA, G.; SANGOI, L.; SUHRE, E.; SILVA, A. A. Desempenho agrônômico e econômico do milho em diferentes sistemas de manejo e épocas de semeadura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.399-407, 2006.

FORTNUM, B.A.; KASPERBAUER, M.J.; HUNT, P.G.; BRIDGES, W.C. Biomass partitioning in tomato plants infected with *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, v. 23, p. 291-297, 1991.

GARCIA, V.; SILVA, S. F.; DINARDO-MIRANDA, L. L. Comportamento de variedades de cana-de-açúcar em relação a *Meloidogyne incognita*. **Revista Nacional de Açúcar e Álcool**, v. 17, n.87, p. 14-19, 1997.

GOMES, A.R.; FAUSTINO, J.F.; WILCKEN, S.R.S.; CARNEIRO, R.M.D.G.; AMBRÓSIO, M.M.Q.; SOUZA, N.L. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* L. no Estado da Paraíba. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 273, 2007.

GOMES, C. B., CARBONARI, J. J.; MEDINA, I. L.; LIMA, D .L. Levantamento de *Meloidogyne ethiopica* em viveiros de quivi no Rio Grande do Sul e registro de sua ocorrência em *Nicotiana tabacum* e *Sida rhombifolia*. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 114, 2005.

GOMES, C. B.; BELLÉ, C.; PORTO, A. C. F. Nematoides fitoparasitas da cana-de-açúcar: ocorrência, danos e manejo. In: SILVA, S. D. A.; MONTERO, C. R. S.; SANTOS, R. C.; NAVA, D. E.; GOMES, C. B.; ALMEIDA, I. R. **Sistema de produção de cana-de-açúcar para o Rio Grande do Sul**. Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS. p. 98 – 103, 2016.

GOMES, C. B.; SOMAVILLA, L.; CARNEIRO, R. M. D. G.; ZECCA, A. G. D.; COSTA, F. A.; LIMA-MEDINA, I. Monitoramento do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) em figueira (*Ficus carica* L.) no Rio Grande do Sul Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento** 86, 2009.

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

GOMES, C.B.; LIMA, D.L.; CARNEIRO, R.M.D.G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em fumo (*Nicotiana tabacum*) no Estado de Santa Catarina. **Nematologia Brasileira**, v. 30, p. 115, 2006.

GOMES, R. S.; NOVARETTI, W. R. T. Levantamento de nematoides parasitos da cana-de-açúcar na usina Bonfim. **Nematologia Brasileira**, v. 9, n.1, p.135-141, 1985.

GONÇALVES, W.; MAZZAFERA, P.; FERRAZ, L.C.C.B.; SILVAROLLA, M.B.; LIMA, M.M.A. Biochemical basis of coffee tree resistance to *Meloidogyne incognita*. **Plantations, Recherché, Developpment**, v. 2, n. 1, p. 54-60, 1995.

GOULART, R.R. **Desenvolvimento e respostas fisiológicas de mudas de cafeeiro parasitado por *Meloidogyne exigua* e *M. paranaensis***. 2011. 68f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia. Universidade Federal de Viçosa, 2011.

GUIMARAES, L. M. P.; PEDROSA, E. M.; COELHO, R. S. B.; CHAVES, A.; MARANHÃO, S. R. V. L.; MIRANDA, T. L. Efeito de metil jasmonato e silicato de potássio no parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zeae* em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 32, p. 50-55, 2008.

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

HERMANN, E. R.; CÂMARA, G. M. S. Um método simples para estimar a área foliar de cana-de-açúcar. **Revista da STAB**, v. 17, p. 32-34, 1999.

HU, M.X.; ZHUO, Z.; LIAO, J. L. Multiplex PCR for the simultaneous identification and detection of *Meloidogyne incognita*, *M. enterolobii* and *M. javanica* using DNA extracted directly from individual galls. *Phytopathology*, v.101, n.11, p.1270-1277, 2011.

HUNT, D. J.; HANDOO, Z. A. Taxonomy, identification and principal species. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. R. (Ed.). **Root-knot Nematodes**. Cambridge: CABI International, 2009. p. 55-88.

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

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: CAB International, p. 43-70, 2002.

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

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola - ano Base 2016**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>>. Acesso em: 25 nov. 2017.

INMAN-BAMBER, N.G. Sugarcane water stress criteria for irrigation and drying off. **Field Crops Research**, v.89, p.107-122, 2004.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, v. 48, p. 692, 1964.

KARSSSEN, G. Description of *Meloidogyne fallax* n. sp. (Nematoda: Heteroderidae), a root-knot nematode from The Netherlands. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 19, p. 593–599, 1996.

KAUSHAL, K.K.; MADAVI, R. Effect of *Heterodera avenae* on the growth, photosynthesis and chlorophyll content in triticale. **Indian Journal of Nematology**, v. 22, p. 29-35, 1992.

KIEWNICK, S.; WOLF, S.; WILLARETH, M. AND JUERG-ERNST FREY, J. E. Identification of the tropical root-knot nematode species *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* using a multiplex PCR assay. *Nematology*, v.15, p.891-894, 2013.

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

KOENNING, S.R.; WALTERS, S.A.; BARKER, K.R. Impact of soil texture on the reproductive and damage potentials of *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne incognita* on cotton. **Journal of Nematology**, v. 28, p. 527–536, 1996.

KUMAR, S.; KHAANA, A.S. Effect of neem-based products on the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, and growth of tomato. **Nematologia Mediterranea**, v.34, p.141-146, 2006.

LANDELL, M. G. A.; CAMPANA, M. P.; FIGUEIREDO, P.; XAVIER, M. A.; ANJOS, I. A.; DINARDO-MIRANDA, L. L.; SCARPARI, M. S.; GARCIA, J. C.; BIDÓIA, M. A. P.; SILVA, D. N.; MENDONÇA, J. R.; KANTHACK, R. A. D.; CAMPOS, M. F.; BRANCALIÃO, S. R.; PETRI, R. H.; MIGUEL, P. E. M. Sistema de multiplicação de cana-de-açúcar com uso de mudas pré-brotadas (MPB), oriundas de gemas individualizadas. **Documentos IAC**, v. 109, 16 p., 2013.

LEMÕES, L. S.; SIMON, T. E. D.; CARNEIRO, J. Alimentação Animal. In: SILVA, S. D. A.; MONTERO, C. R. S.; SANTOS, R. C.; NAVA, D. E.; GOMES, C. B.; ALMEIDA, I. R. **Sistema de produção de cana-de-açúcar para o Rio Grande do Sul**. Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS. p. 206– 2014, 2016.

LIMA, I. M.; DOLINSKI, C. M.; SOUZA, R. M. Dispersão de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabas de São João da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros dentre plantas invasoras e cultivadas. **Nematologia Brasileira**, v.27, n.2, p.257-258, 2003.

LIMA, I. M.; MARTINS, M.V.V.; SERRANO, L.A.L.; CARNEIRO, R.M.D.G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira 'Paluma' no do Estado do Espírito Santo. **Nematologia Brasileira**, v.31, n.2, p.133, 2007.

LIMA-MEDINA, I.; CASA-COILA, V.H.; GOMES, C. B.; PEREIRA, A. S.; NAZARENO, N.X.R.Ocorrência de *Meloidogyne ethiopica* no Paraná e reação de cultivares de batata ao nematoide das galhas. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 482-485, 2014.

LIMA-MEDINA, I.; GOMES, C.B.; CORREA, V.R.; MATTOS, V.S.; CASTAGNONE-SERENO, P.; CARNEIRO, R.M.D.G. Genetic diversity of *Meloidogyne* spp. parasitising potato in Brazil and aggressiveness of *Meloidogyne javanica* populations on susceptible cultivars. **Nematology**, v. 19, p. 69-80, 2017.

LIMA-MEDINA, I.; GOMES, C.B.; ROSSI,C.; CARNEIRO, R.M.D.G. Caracterização e identificação de populações de nematoides de galhas provenientes de figueiras (*Ficus carica* L.) do Rio Grande do Sul e de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, v.30, n.2, p.179-187, 2006.

LIMA-MEDINA, I.; SOMAVILLA, L.; CARNEIRO, R.M.D.G.; GOMES, C.B. Espécies de *Meloidogyne* em figueira (*Ficus carica*) e em plantas infestantes. **Nematropica**, v.43, n.1, p56-62, 2013.

LORDELLO A.I.L.; LORDELLO, R.R.A. Identificação de raças de *Meloidogyne incognita* associada a algumas plantas. **Summa Phytopathologica**, v. 22, p.43-45, 1996.

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

LOUBSER, J. T. Evaluation of nematode problems in grapevines. **Viticultural and Oenological Research Institute**, v.39, p.24-28, 1989.

LOVEYS, R.R.; BIRD A.F. The influence of nematodes on photosynthesis in tomato plants. **Physiological Plant Pathology** v. 3, p. 525-529, 1973.

MACEDO, N.; MACEDO, D.; CAMPOS, M.; NOVARETTI, W. R. T.; FERRAZ, L. C. C. B. Manejo de pragas e nematoides. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. (Eds.). **Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e álcool - tecnologias e perspectivas**. 2 ed. Viçosa: editora, v. 1, p. 119-159, 2009.

MACHADO, A. C. Z.; ITO, D. S.; SILVA, S. A.; DORIGO, O. F. Agressividade de populações de *Meloidogyne paranaensis* em cafeeiro 'Mundo Novo'. **VIII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, v.8, n.1, p. 1-5, 2013.

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

MARQUES, M. L. S.; PIMENTEL, J. P.; TAVARES, O. C. H.; VEIGA, C. F. M.; BERBARA, R. L. L. Hospedabilidade de diferentes espécies de plantas a *Meloidogyne enterolobii* no Estado do Rio de Janeiro. **Nematropica**, v. 42, p. 304-313, 2012.

MATTOS, V.S.; FURLANETTO, C.; SILVA, J.G.P.; SANTOS, D.F.; ALMEIDA, M.R.A.; CORREA, V.R.; MOITA, A.W.; CASTAGNONE-SERENO, P.; CARNEIRO, R.M.D.G. *Meloidogyne* spp. populations from native Cerrado and soybean cultivated areas: genetic variability and aggressiveness. **Nematology**, v.18, n.5, p. 505 – 515, 2016

MEINZER, F.C.; ZHU, J. Nitrogen stress reduces the efficiency of the C4 CO₂ concentrating system, and therefore quantum yield, in *Saccharum* (sugarcane) species. **Journal of Experimental Botany**, v. 49, p. 1227-1234, 1998.

MELAKEBERHAN, H. Effects of nutrient source on the physiological mechanisms of *Heterodera glycines* and soybean genotypes interactions. **Nematology**. v.1,n.2, p.113-120, 1999.

MELAKEBERHAN, H.; FERRIS, H.; DIAS, J.M. Physiological response of resistant and susceptible *Vitis vinifera* to *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, v. 22, p. 224-230, 1990.

MENG, Q.P.; LONG, H.; XU, J.H. PCR assays for rapid and sensitive identification of three major root-knot nematodes, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria*. **Acta Phytopathologica Sinica** v. 34, p. 204-210, 2004.

MITKOWSKI, N. A.; ABAWI, G. S. Reproductive fitness on lettuce of *Meloidogyne hapla* from New York state vegetable fields. **Nematology**, v.5, p.77-83, 2003.

MOENS, M.; PERRY, R.; STARR, J. *Meloidogyne* species- a diverse group of novel and important plant parasites. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (eds). *Root-knot nematodes*. Wallingford, p. 483, 2009a.

MOENS, M.; PERRY, R.; STARR, J.L. Survival Mechanisms. In: PERRY, R.; MOENS, M.; STARR, J.L. (eds). **Root-knot Nematodes**. Cambridge, CABI International, p. 1-13, 2009b.

MOURA, R. M. O gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose – Parte II. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 5, p. 281-315, 1997.

MOURA, R. M. Um sistema integrado de controle de fitonematóides da cana-de-açúcar para o nordeste. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 7, p. 50-61, 2010.

MOURA, R. M.; ALMEIDA, A. V. Estudos preliminares sobre a ocorrência de fitonematóides associados à cana-de-açúcar em áreas de baixa produtividade agrícola no estado de Pernambuco. In: S. V REUNIÃO BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA. Resumos, p. 213-220. 1981.

MOURA, R. M.; ALMEIDA, R. M. A.; COSTA, M.; LIMA, S. T. S.; CARNEIRO, R. M. D. G. *Meloidogyne* species detected in sugarcane fields in the State of Pernambuco, Brazil. **Nematologia Brasileira**, v.33, n.4, p.329, 2009.

MOURA, R.M. Alguns nematóides de interesse agrícola assinalados em Pernambuco e Estados vizinhos. **Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia**. v .4, p. 126, 1971.

MOURA, R.M. Controle integrado dos nematóides da cana-de-açúcar no nordeste do Brasil. **Anais**, 22º Congresso Brasileiro de Nematologia, Uberlândia, MG. 2000. pp.88-94.

MOURA, R.M. Dois anos de rotação de cultura em campos de cana-de-açúcar para controle da meloidoginose: considerações sobre o método e reflexos na produtividade agroindustrial. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, p. 597–560, 1995.

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

MOURA, R.M.; MACEDO, M.E.A. Efeito da aplicação de Carbofuran em populações de fitonematóides ecto e endoparasitas da cana-de-açúcar e no desenvolvimento de cana-planta. **Nematologia Brasileira**, v. 20, p. 73, 1997.

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

MOURA, R. M.; COSTA, M. B.; SILVA, S. T.; CARNEIRO, R.M.G. Espécies do fitonematóide do gênero *Meloidogyne* (Nematoda: Heteroderidae) encontradas associadas à cultura da cana-de-açúcar no estado de Pernambuco. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 9, p.193-204, 2012.

MOZAMBANI, A.E. et al. História e morfologia da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S.V. et al. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: Cadernos Planalsucar. 2006. p.11-18.

MUNIZ, M. F. S.; CAMPOS, V. P.; CASTAGNONE-SERENO, P.; CASTRO, J. M. C. ALMEIDA, M. R. A.; CARNEIRO, R. M. D. G. Diversity of *Meloidogyne exigua* (Tylenchida: Meloidogynidae) populations from coffee and rubber tree. **Nematology**, v.10, p.897-910, 2008.

MUNIZ, M. F. S.; CAMPOS, V. P.; MOITA, GONÇALVES, W.; ALMEIDA, M. R. A. SOUSA, F. R.; CARNEIRO, R. M. D. G. Reaction of coffee genotypes to different populations of *Meloidogyne* spp.: detection of a naturally virulent *M. exigua* population. **Tropical Plant Pathology**. v.34, p.370-378, 2009.

NAGESH, M.; DHAWAN, S.C. Effect of inoculum density of *Heterodera avenae* on photosynthetic efficiency, chlorophyll, and mineral contents of wheat. **Indian Journal of Nematology**, v. 18, p. 40-43, 1988.

NASCIMENTO JUNIOR, V. C., **Aplicação de 1-Metilciclopropeno em soja sob déficit hídrico e seus reflexos na fixação biológica do nitrogênio**, 2012. 72 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Estadual de Londrina, 2012.

NEGRETTI, R.R.D.; MATTOS, V.S.; SOMAVILLA, L.; MANICA-BERTO, R.; AGOSTINETTO, D.; CASTAGNONE-SERENO, P.; CARNEIRO, R.M.D.G.; GOMES, CESAR B. Characterization of a *Meloidogyne* species complex parasitizing rice in southern Brazil. **Nematology**, v. 19, p. 403-412, 2017.

NORONHA, M. A.; MUNIZ, M. F. S.; CRUZ, M. M.; ASSUNÇÃO, M. C.; CASTRO, J. M. C.; OLIVEIRA, E. R. L.; MIRANDA, C. G. S.; MACHADO, A. C. Z. *Meloidogyne* and *Pratylenchus* species in sugarcane fields in the state of Alagoas, Brazil. **Ciência Rural**, v. 47, p. e20151402, 2017.

NOVARETTI, W. R. T. **Controle de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zeae* (Nematoda: Heteroderidae) em cana-de-açúcar associados ou não à matéria orgânica**, 1997. 112 f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, 1997.

NOVARETTI, W. R. T.; PAULO, A. D.; NOVARETTI, A. A. P. Efeito da época de aplicação de nematicidas em pomares cítricos, no controle do nematóide *Tylenchulus semipenetrans*. **Nematologia Brasileira**, v. 21, p. 14, 1997.

NOVARETTI, W. R. T.; REIS, A. M. Influência do método de aplicação de nematicidas no controle de *Pratylenchus zeae* em soqueiras de cana-de-açúcar e definição dos níveis de dano e de controle. **Nematologia Brasileira**, v. 33, n. 1, p.83-89, 2009.

NOVARETTI, W.R.T., DINARDO, L.L.; TERAN, F.O.; CARDERÁN, J.O.; TOTINO, L.C. Nematoides associados à cana-de-açúcar. In: SEMINÁRIO DE TECNOLOGIA AGRONÔMICA, II, Piracicaba. **Resumos**, p. 296-312. 1984.

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

NOVARETTI, W.R.T.; LORDELLO, L.G.E.; ELLI, E.J.; WENING FILHO, G. Viabilidade econômica do nematicida carbofuran na cultura da cana-de-açúcar. **Sociedade Brasileira de Nematologia**, v.3, p. 117-131, 1978.

NOVARETTI, W.R.T.; MONTEIRO, A.; FERRAZ., L.C.B. Controle químico de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zeae* em cana-de-açúcar com carbofuran e terbufós. **Nematologia Brasileira**, v.22, p. 60-73, 1998.

NOVARETTI, W.R.T.; NELLI, E.J.; CARDERÁN, J.O. Testes de novos nematicidas em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 9, p. 123-133, 1985.

NOVARETTI, W.R.T.; NUNES, J.R.D.; NELLI, E.J. Comportamento de clones e variedades comerciais em relação ao nematóide *Meloidogyne javanica*. **Reunião Brasileira de Nematologia**, n. 5, p. 27, 1981.

NYOIKE, T.W.; MEKETE, T.; MCSORLEY, R.; WEIBELZAHN-KARIGI, E.; E. LIBURD, O. E. Confirmation of *Meloidogyne hapla* on strawberry in florida using molecular and morphological techniques. **Nematropica**, v. 42, n. 2, p. 253- 259, 2012.

OLIVEIRA, D. S.; OLIVEIRA R. D. L.; SILVA, D. G.; SILVA, R. V. Characterization of *Meloidogyne incognita* populations from São Paulo and Minas Gerais state and their pathogenicity on coffe plants. **Tropical Plant Pathology**, v.36, n.3, p.190-194, 2011.

ONKENDIA, E. M.; KARIUKIB, G. M.; MARAISC, M.; MOLELEKIA, L. N. The threat of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Africa: a review. **Plant Pathology**, v. 63, p. 727–737, 2014.

OOSTENBRINK, M. **Major characteristics of the relation between nematodes and plants**. Mendelingen Landbouwhoge School Wageningen, v.6, p.1-46, 1966.

PACHECO, D. R.; BECKER, C. E.; SCHAFFER, J. T.; BELLÉ, C.; GOMES, C. B. Potencial de rizobactérias no biocontrole de *Meloidogyne javanica* e na promoção de crescimento de plantas de cana-de-açúcar. In: **Congresso Brasileiro de Nematologia**, Petrolina, v.33, p.136, 2016.

PATEL, D. J.; PATEL B. A.; PATEL, H. V. Pathotypes of *Meloidogyne javanica* in India. **Nematologia Mediterranea**, v.21, p.207-208, 1993.

PEASE, W. S.; ALBRIGHT, D.; DEROOS, C.; GOTTSMAN, L.; KYLE, A. D.; MORELLOFROSCHE, R.; ROBINSON, J. C. **Pesticide contamination of round water in California**. Berkeley: University of California, 1995. 145 p.

PINHEIRO, J. C.; PEREIRA, R. B.; SUINAGA, F. A. **Manejo de nematoides na cultura do tomate**. Circular Técnica 132, Brasília DF. 12 p. 2014

POLHAREL, R. R.; ABAWI, G. S.; ZHANG, N.; DUXBURY, J. M.; SMART, C. D. Characterization of isolated of *Meloidogyne* from rice-wheat production fields in Nepal. **Journal of Nematology**, v.39, n.3, p.221-230, 2007.

PONTE, J.J.; LEMOS, J.W.V.; CASTRO, F.E.; MARIA, L. Comportamento de plantas frutíferas tropicais em relação a nematoides das galhas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 1, p. 29-33, 1977.

POSTUKA, J.W.; DROPKIN, V.H.; NELSON, C.J. Photosynthesis, photorespiration, and respiration of soybean after infection with root nematodes. **Photosynthetica**, v. 20, p. 405- 410, 1986.

PROCANA. Setor Sucroalcooleiro. São Paulo, 2017. Disponível em:<http://ri.biosev.com/biosev/web/conteudo_pt.asp?idioma=0&conta=28&tipo=30884> Acesso em: 22 jan. 2018.

RANDIG, O.; BONGIOVANNI, M.; CARNEIRO, R.M.D.G.; CASTAGNONE-SERENO, P. Genetic diversity of root-knot nematodes from Brazil and development of SCAR markers specific for the coffee-damaging species. **Genome**, v.45, p.862-870, 2002.

RANDIG, O.; CARNEIRO, R.M.D.G.; CASTAGNONE-SERENO, P. Identificação das principais espécies de *Meloidogyne* parasitas do cafeeiro no Brasil com marcadores SCAR-CAFÉ em Multiplex-PCR. **Nematologia Brasileira**, v.28, p.1-10, 2004.

REGIS, E.M.O.; R.M. MOURA. Efeito conjunto da meloidoginose e do raquitismo da soqueira em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 13, p. 119-128, 1989.

ROBERTS, P.A. Concepts and Consequences of Resistance. In: STARr, J.L.; COOK. R.; BRIDGE, J. (eds) **Plant Resistance to Parasitic Nematodes**. CAB International, Wallingford. pp. 25-41, 2002.

ROSA, R. C. T.; MOURA, R.; PEDROSA, E. M.; CHAVES, A. Ocorrência de *Rotylenchulus reniformis* em cana-de-açúcar no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n.1, p. 93-95, 2003.

ROBERTS, D.; OLIVEIRA, C. M. G.; NEILSON, R., BLOK, V. C. Diagnose molecular de nematoides parasitos de plantas. In: OLIVEIRA, C.M.G.; SANTOS, M.A.; CASTRO, L.H.S. **Diagnose de fitonematoides** . Campinas: Millennium Editora , 2016. Cap. 14, p.281-324.

SCHAFER, J. T. **Nematoide das galhas (*Meloidogyne javanica*) na cultura da batata: período de cultivo e dinâmica populacional, qualidade dos tubérculos e alterações histopatológicas em diferentes genótipos**, 2015. 112f. Tese (Doutorado em Fitossanidade) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

SALAWU, E.O. Susceptibility and growth response of selected sugarcane cultivars to infection by *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Mediterranea**, v. 18, p. 63-64, 1990.

SANGOI, L.; ALMEIDA, M. L.; GRACIETTI, M.; BIANCHET, P.; HORN, D. SUSTENTABILIDADE do colmo em híbridos de milho de diferentes épocas de cultivo em função da densidade de plantas. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.1, n.2, p.1, 2002.

SANTOS, B.B.; SILVA, L.A.T. Ocorrência de nematoides do gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887 (Nematoda, Heteroderidae) em algumas plantas cultivadas no Estado do Paraná, Brasil. **Revista Agrícola**, v. 59, n.1, p. 20, 1984.

SANTOS, M.F.A.; FURLANETTO, C.; CARNEIRO, M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; MOTA, F.C.; GOMES, A. C. M. M.; SILVEIRA, N.O.R.; SILVA, J.G.P.; CASTAGNONE-SERENO, P.; TIGANO, M.S.; CARNEIRO, R. M. D. G. Biometrical, biological, biochemical and molecular characteristics of *Meloidogyne incognita* isolates and related species. **European Journal of Plant Pathology**, v.134, p. 671–684, 2012a.

SANTOS, D. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; SOUTO, E.R.; BIELA, F.; CUNHA, T.P.L.; ROGERIO, F.; SILVA, T. R. B.; MILANI, K.F. Reaction of sugarcane genotypes to *Pratylenchus brachyurus* and *P. zae*. **International Journal of Food, Agriculture and Environment**, v. 10, p. 585-587, 2012b.

SANTOS, H.R.B.; PEDROSA, E. M. R.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; ROLIM, M. M.; ROLIM, M.M.; MARANHÃO, S.R.V.L.; MEDEIROS, D.B. Crescimento de três variedades de cana-de-açúcar submetidas a estresse hídrico associado à *Meloidogyne incognita*. **Agrária**, v. 8, p. 547-554, 2013.

SCARAMUCCI, J.A. Revolução no canavial. **Revista Pesquisa Fapesp**, v. 122, p. 2-6, 2006.

SCHANS, J.; ARNTZEN, F.K. Photosynthesis, transpiration and plant growth characters of different potato variedades at various densities of *Globodera pallida*. **Netherland Journal of Plant Pathology**, v.97, p.297-310, 1991.

SEVERINO, J.J. ; DIAS-ARIEIRA, C. R. ; TESSMANN, D.J. . Nematodes associated with sugarcane (*Saccharum* spp.) in sandy soils in Parana, Brazil. **Nematropica**, v. 40, p. 111-119, 2010.

SEVERINO, J.J. ; DIAS-ARIEIRA, C.R. ; TESSMANN, D.J. ; SOUTO, E.R. . Identificação de populações de *Meloidogyne* spp. parasitas da cana-de-açúcar na região Noroeste do Paraná pelo fenótipo da isoenzima esterase. **Nematologia Brasileira**, v. 32, p. 206-211, 2008.

SEESSAO, Y. GAY, M.; MERLIN, S.; VISCOGLIOSI, E.; ALIOUAT-DENIS, C. M.; AUDEBERT, C. A review of methods for nematode identification. **Journal of Microbiological Methods**, v.138, p.37-49, 2017.

SHARMA, R. D.; GOMES, A. C. Patogenicidade de *Meloidogyne javanica* no crescimento da lentilha, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, n.5, p.759-762, 1992.

SHARMA, R. D.; SILVA, D. B.; CASTRO, L. H. R. Efeito de *Helicotylenchus dihystera* sobre trigo e ervilha cultivados em solos provenientes de três sistemas de preparo. **Nematologia Brasileira**, v. 17, p. 85-95, 1993.

SHARMA, R.D.; RODRIGUEZ, C.L.H. Efeito da densidade de população inicial do nematódeo *Meloidogyne javanica* sobre o desenvolvimento e rendimento da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.17, p.469-477, 1982.

SILVA, A. P.; PEDROSA, E. M. R.; CHAVES, A.; MARANHÃO, S. R. V. L.; GUIMARÃES, L. M. P.; ROLIM, M. M. Reação de variedades de cana-de-açúcar ao parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *M. enterolobii*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.7, n.1, p.814-819, 2012.

SILVA, G.S.; SOBRINHO, C.A.; PEREIRA, A.L.; SANTOS, J.M. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no estado do Piauí. **Nematologia Brasileira**, v. 30, p. 307-309, 2006.

SILVA, M. S.; BANDEIRA, M. A.; MARANHÃO, S. R. V. L.; CARVALHO, R. M.; PEDROSA, E. M. P. Comportamento de genótipos RB de cana-de-açúcar ao parasitismo dos nematoides das galhas. **Agrária**, v.11, n.2, p.73-79, 2016.

SIQUEIRA, K.M.S.; ALMEIDA, M. R. A.; SANTOS, M.F.A.; RESENDE, F. O.; TIGANO, M.; CARNEIRO, R. M. D. G. Detecção de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e mamoeiro no estado de Goiás, usando marcadores moleculares. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, p. 256-260, 2009.

SIRCA, S.; URECK, G.; KARSSSEN, G. First report of the root-knot nematode *Meloidogyne ethiopica* on tomato in Europe. **Plant Disease**, v.88, n.6, p.680, 2004.

SIDDIQUI, Y.; ALI, A.; NAIDU, Y. Histopathological changes induced by *Meloidogyne incognita* in some ornamental plants. **Crop Protection**, v.65, p.216-220, 2014.

SOMAVILLA, L. **Levantamento e caracterização do nematoide das galhas em videira nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina e estudo da resistência de porta-enxertos de videira a *Meloidogyne* spp.** 2011. 77f. Tese (Doutorado em Fitossanidade), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

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

SOMSSICH, I. E.; HAHNBROCK, K. Patogen defense in plants: a paradigm of biological complexity. **Trends in Plant Science**, v. 3, p. 86-90, 1998.

STARE, B. G.; STRAJNAR, P.; SUSIČ, N.; UREK, G.; ŠIRCA, S. Reported populations of *Meloidogyne ethiopica* in Europe identified as *Meloidogyne luci*. **Plant Disease**, v. 101, p. 1627-1632, 2017.

STARR, J. L.; HEALD, C. M.; ROBINSON, A. F.; SMITH, R. G.; KRAUSZ, J. P. *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* and associated soil textures from some cotton production areas of Texas. **Journal of Nematology**, v. 25, p. 895-899, 1993.

STIRLING, G. Susceptibility of sugarcane varieties to two species of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica* and *M. incognita*), and implications for crops grown in rotation with sugarcane. **Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technology**, v. 28, p.1-6, 2006.

STIRLING, G.R.; HALPIN, N.V.; BELL, M.J. A surface mulch of crop residues enhances suppressiveness to plant-parasitic nematodes in sugarcane soils. **Nematropica**, v. 41, p. 109–121, 2011a;

STIRLING, G.R.; RAMES, E.; STIRLING, A. M.; HAMILL, S. Factors associated with the suppressiveness of sugarcane soils to plant-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, v. 43, p. 135–148, 2011b.

STIRLING, G.R.; BLAIR, B.; WILSON, E.; STIRLING, M. Crop rotation for managing nematode pests and improving soil health in sugarcane cropping systems. **Proceedings of the Australian Society of Sugarcane Technologists** v. 24, p. 129–134, 2002.

STIRLING, G.R.; BLAIR, B. Nematodes. In: ROTT, P.; BAILEY, R.A. ; COMSTOCK, J.C. ; CROFT, B.J.; SAUMTALLY, A.S. (ed). **A Guide to Sugarcane Diseases**. CIRAD Publications Service, Montpellier - France, p. 299–305, 2000.

SWOFFORD, D. L. PAUP*. **Phylogenetic analisys using UPGMA (*and other methods) Version 4 b10**. Sinauer Associates, Sunderland Massachusetts. 2002.

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

TAYLOR, A.L.; SASSER, J.N. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species)**. Raleigh: International Meloidogyne Project, NCSU & USAID Coop. Publ., 1978. 111p.

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

TIGANO, M.; CARNEIRO, R. M. D. G.; DICKSON, D. W.; ADANS, B. Phylogeny of *Meloidogyne* spp. based on 18S rDNA and the intergenic region of mitochondrial DNA sequences. **Nematology**, v. 7, n.6, p. 851-862, 2005.

TIGANO, M.; DE SIQUEIRA, K.; CASTAGNONE-SERENO, P.; MULET, K.; QUEIROZ, P.; DOS SANTOS, M.; TEIXEIRA, C.; ALMEIDA, M.; SILVA, J.; CARNEIRO, R. Genetic diversity of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* and development of a SCAR marker for this guava-damaging species. **Plant Pathology**, v. 59, p. 1054-1061, 2010.

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

TIHOHOD, D.; FERRAZ, S. Variabilidade de três populações de *Meloidogyne javanica* em plantas de soja. **Nematologia Brasileira**, p.163-171, 1986.

TORRES, G.R.C.; SALES JÚNIOR, R.; PEDROSA, E.M.R.; MOURA, R.M. *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira** v. 29, p. 570, 240.

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

TRIANAPHYLLOU, A. C. Cytogenetics, cytotaxonomy and phylogeny of root-knot nematodes. In: BARKER, K.R.; CARTER, C. C.; SASSER, J. N. (eds). **An advanced treatise on *Meloidogyne*, v. 1, Biology and Control**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, p. 107-114, 1985.

TU, C.; KOENNING, S.; HU, S. Root-Parasitic Nematodes Enhance Soil Microbial Activities and Nitrogen Mineralization. **Microbial Ecology**, v. 46, p. 134–144, 2003.

TRUDGILL, D.L. Resistance and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. *Annual Review of Phytopathology*, v. 29, p. 167-192. 1991.

UHART, S.A.; ANDRADE, F.H. Nitrogen deficiency in maize. I. Effects on crop growth, development, dry matter partitioning, and kernel set. **Crop Science**, v.35, p.1376-1383, 1995.

VERISSIMO, M. A. A.; SILVA, S. D. A.; AIRES, R. F.; DAROS, F.; PANZIERA, W. Adaptabilidade e estabilidade de genótipos precoces de cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n.4, p.561-568, 2012.

WAHID, A. Analysis of toxic and osmotic effects of sodium chloride on leaf growth and economic yield of sugarcane. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v.45, n.2, p.133-141, 2004.

WALLACE, H.R. The influence of root knot nematode, *Meloidogyne javanica*, on photosynthesis and on nutrient demand by roots of tomato plants. **Nematologica**. v.20, p.27-33, 1974.

WHITEHEAD, A. G. Taxonomy of *Meloidogyne* (Nematodea: Heteroderidae) with descriptions of four new species. **Transactions of the Linnean Society of London**, v. 31, p. 263–401, 1968.

XU, K. Comparison of three different esterase phenotype isolates of the coffee root-knot nematode, *Meloidogyne konaensis*. University of Hawaii, p. 1-60, 2002.

ZIJLSTRA, C. Identification of *Meloidogyne chitwood*, *M. fallax* and *M. hapla* based on SCAR-PCR: a powerful way of enabling reliable identification of populations or

individuals that share common traits. **European Journal of Plant Pathology**, v.106, p.283-290, 2000.

ZIJLSTRA, C; DONKERS-VENNE, D.T.H.M.; FARGETTE, M. Identification of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* using sequence characterised amplified region (SCAR) based PCR assays. **Nematology** v. 2, p. 847-853, 2000.

APÉNDICE

Apêndice 1 - Coeficiente de correlação de Pearson entre os parâmetros avaliados no teste de agressividade de populações de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* em diferentes genótipos de cana-de-açúcar.

Espécie	Genótipo	NG	NNGR	MFSR	MFPA	AP	NP	DC	AF	COL_A	CLO_B	CLO_T	FDN	FDA	LIG	CEL	HEMI	
<i>M. javanica</i>	RB935581	FR	0,89*	0,88*	-0,89*	-0,81*	-0,76*	-0,76*	-0,91*	-0,79*	-0,75*	-0,76*	0,80*	0,75*	0,50*	0,61*	0,70*	
		NG	-	0,87*	-0,78*	-0,68*	-0,75*	-0,75*	-0,71*	-0,83*	-0,72*	-0,71*	-0,65*	0,65*	0,71*	0,64*	0,56*	0,80*
		NNGR	-	-	-0,76*	-0,79*	-0,65*	-0,65*	-0,70*	-0,85*	-0,65*	-0,67*	-0,72*	0,62*	0,56*	0,59*	0,56*	0,63*
	RB008347	FR	0,81*	0,83*	-0,81*	-0,80*	-0,61*	-0,61*	-0,73*	-0,81*	-0,73*	-0,50*	-0,79*	0,85*	0,70*	0,50*	0,68*	0,77*
		NG	-	0,84*	-0,76*	-0,64*	-0,65*	-0,65*	-0,78*	-0,79*	-0,70*	-0,61*	-0,68*	0,75*	0,69*	0,60*	0,59*	0,78*
		NNGR	-	-	-0,73*	-0,71*	-0,75*	-0,75*	-0,69*	-0,74*	-0,55*	-0,60*	-0,71*	0,72*	0,54*	0,63*	0,59*	0,73*
<i>M. incognita</i>	RB935581	FR	0,82*	0,79*	-0,76*	-0,89*	-0,82*	-0,70*	-0,60*	-0,82*	-0,73*	-0,81*	-0,71*	0,90*	0,84*	0,56*	0,68*	0,78*
		NG	-	0,81*	-0,71*	-0,66*	-0,80*	-0,79*	-0,82*	-0,80*	-0,82*	-0,70*	-0,80*	0,73*	0,80*	0,72*	0,63*	0,90*
		NNGR	-	-	-0,75*	-0,71*	-0,85*	-0,69*	-0,79*	-0,77*	-0,85*	-0,74*	-0,82*	0,69*	0,63*	0,66*	0,63*	0,71*
	RB008347	FR	0,85*	0,69*	-0,78*	-0,84*	-0,72*	-0,62*	-0,70*	-0,91*	-0,83*	-0,63*	-0,90*	0,95*	0,78*	0,56*	0,76*	0,86*
		NG	-	0,72*	-0,67*	-0,74*	-0,53*	-0,63*	-0,80*	-0,88*	-0,80*	-0,69*	-0,80*	0,84*	0,77*	0,67*	0,66*	0,87*
		NNGR	-	-	-0,60*	-0,78*	-0,71*	-0,61*	-0,90*	-0,80*	-0,65*	-0,70*	-0,79*	0,81*	0,60*	0,71*	0,66*	0,82*

*p<0,05. FR: Fator de reprodução; NG: Número de galhas; NNGR: Número de nematoides (ovos + J2) por grama de raiz; MFSR: Massa fresca do sistema radicular; MFPA: Massa fresca da parte aérea; AP: Altura de plantas; NP: Número de perfilhos; DC: Diâmetro do colmo; AF: Área foliar; COL_A: Clorofila a; COL_B: Clorofila b; COL_T: Clorofila Total; Brix: Porcentagem de sólidos presentes dissolvidos na água; FDN: Fibra em detergente neutro; FDA: Fibra em detergente ácido; LIG: Lignina; CEL: Celulose; Hemi: Hemicelulose

Apêndice 2 - Coeficiente de correlação de Pearson entre os parâmetros avaliados na reação de genótipos de cana-de-açúcar infectados por *Meloidogyne incognitae* *Meloidogyne javanica*.

	NG	NNGR	MFPA	MFSR	AP	DC	NP	AF
FR	0,95*	0,91*	-0,7*	-0,7*	-0,7*	-0,8*	-0,6*	-0,7*
NG	-	0,94*	-0,7*	-0,7*	-0,7*	-0,8*	-0,6*	-0,7*
NNGR	-	-	-0,8*	-0,7*	-0,7*	-0,8*	-0,6*	-0,7*

*p<0,05. FR: Fator de reprodução; NG: Número de galhas; NNGR: Número de nematoides (ovos + J2) por grama de raiz; MFSR: Massa fresca do sistema radicular; MFPA: Massa fresca da parte aérea; AP: Altura de plantas; NP: Número de perfilhos; DC: Diâmetro do colmo; AF: Área foliar; Brix: Porcentagem de sólidos presentes dissolvidos na água.

Apêndice 3 - Coeficiente de correlação de Pearson entre os parâmetros avaliados no genótipo 'RB867515' inoculadas com *Meloidogyne* spp.

	NG	NNGR	FR	NP	AP	NC	DC	BRIX	MFSR	MFPA	MFC	AF	VC	POL (%)	AR (%)	LIG	CEL	Hcel	FDA	FDN	Clor_a	Clor_b	Clor_toral
FR	0,85*	0,81*	-	-0,71*	-0,75*	-0,60*	0,76*	-0,65*	-0,82*	-0,91*	0,88*	-0,91*	0,92*	-0,78*	0,69*	0,78*	0,75*	0,77*	0,85*	0,88*	-0,85*	-0,75*	-0,76*
NG	-	0,70*	0,86*	-0,69*	-0,71*	-0,62*	0,70*	-0,61*	-0,72*	-0,80*	0,75*	-0,79*	0,81*	-0,64*	0,66*	0,70*	0,69*	0,71*	0,71*	0,79*	-0,81*	-0,68*	-0,72*
NNGR	-	-	0,85*	-0,67*	-0,71*	-0,57*	0,72*	-0,62*	-0,78*	-0,86*	0,84*	-0,86*	0,87*	-0,74*	0,66*	0,74*	0,71*	0,73*	0,81*	0,84*	-0,81*	-0,71*	-0,72*

*p<0,05. FR: Fator de reprodução; NG: Número de galhas; NNGR: Número de nematoides (ovos + J2) por grama de raiz; MFSR: Massa fresca do sistema radicular; MFPA: Massa fresca da parte aérea; MFC: Massa fresca dos colmos; VC: volume de caldo; AP: Altura de plantas; NP: Número de perfilhos; DC: Diâmetro do colmo; AF: Área foliar; COL_A: Clorofila a; COL_B: Clorofila b; COL_T: Clorofila Total; Brix: Porcentagem de sólidos presentes dissolvidos na água; FDN: Fibra em detergente neutro; FDA: Fibra em detergente ácido; LIG: Lignina; CEL: Celulose; Hemi: Hemicelulose.

ANEXO

Anexo 1 – Relação das amostras e espécies de *Meloidogyne* detectado por Bellé (2014) em cana-de-açúcar na região Norte do Rio Grande do Sul.

Amostra	Procedência	Espécies de <i>Meloidogyne</i>	Fenótipos (Esterase)
2	Seberi	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. incognita</i>	I2
4	Seberi	<i>M. incognita</i>	I1
6	Seberi	<i>M. incognita</i>	I2
7	Frederico Westphalen	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. javanica</i>	J2
		<i>M. incognita</i>	I2
8	Frederico Westphalen	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. arenaria</i>	A2
		<i>M. ethiopica</i>	E3
9	Frederico Westphalen	<i>M. incognita</i>	I2
10	Frederico Westphalen	<i>M. javanica</i>	J2
11	Frederico Westphalen	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>Meloidogyne</i> sp.3	A1
12	Frederico Westphalen	<i>M. arenaria</i>	A2
14	Irai	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. javanica</i>	J2
		<i>M. incognita</i>	I2
		<i>Meloidogyne</i> sp.3	A1
15	Irai	<i>M. javanica</i>	J2
16	Irai	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. arenaria</i>	A2
18	Irai	<i>Meloidogyne</i> sp.1	Sc1
19	Vicente Dutra	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. hapla</i>	H1
		<i>M. incognita</i>	I2
20	Vicente Dutra	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>M. ethiopica</i>	E3
		<i>Meloidogyne</i> sp.2	Sc2
		<i>M. incognita</i>	I2
21	Vicente Dutra	<i>M. incognita</i>	I2
22	Vicente Dutra	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. incognita</i>	I2
23	Vicente Dutra	<i>M. incognita</i>	I2
25	Caicara	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. ethiopica</i>	E3
26	Caiçara	<i>M. arenaria</i>	A2
27	Caiçara	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. arenaria</i>	A2

28	Caiçara	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. incognita</i>	I2
29	Caiçara	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>M. arenaria</i>	A2
32	Pinherinho do Vale	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>M. javanica</i>	J2a
33	Pinherinho do Vale	<i>M. javanica</i>	J2
34	Pinherinho do Vale	<i>M. incognita</i>	I2
		<i>Meloidogyne</i> sp.1	Sc1
35	Pinherinho do Vale	<i>Meloidogyne</i> sp.1	Sc1
36	Pinherinho do Vale	<i>M. javanica</i>	J2
37	Alpestre	<i>M. incognita</i>	I2
		<i>M. hapla</i>	H1
		<i>Meloidogyne</i> sp.1	Sc1
39	Alpestre	<i>Meloidogyne</i> sp.1	Sc1
41	Alpestre	<i>Meloidogyne</i> sp.1	Sc1
43	Planalto	<i>M. incognita</i>	I2
44	Planalto	<i>M. incognita</i>	I2
		<i>M. arenaria</i>	A2
46	Planalto	<i>M. incognita</i>	I2
		<i>M. javanica</i>	J3
47	Planalto	<i>M. javanica</i>	J3
51	Amestista do Sul	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. javanica</i>	J2a
52	Amestista do Sul	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. incognita</i>	I2
52	Amestista do Sul	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. incognita</i>	I2
53	Amestista do Sul	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. incognita</i>	I2
54	Amestista do Sul	<i>M. incognita</i>	I2
55	Vista Alegre	<i>M. javanica</i>	J3
56	Vista Alegre	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>M. incognita</i>	I2
59	Vista Alegre	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. incognita</i>	I2
61	Palmitinho	<i>M. javanica</i>	J3
63	Palmitinho	<i>M. arenaria</i>	A2
		<i>M. javanica</i>	J3
64	Palmitinho	<i>M. javanica</i>	J2
66	Palmitinho	<i>M. javanica</i>	J2
67	Tenente Portela	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. javanica</i>	J2
		<i>M. arenaria</i>	A2

68	Tenente Portela	<i>M. javanica</i>	J3
69	Tenente Portela	<i>M. javanica</i>	J2
71	Tenente Portela	<i>M. arenaria</i>	A2
73	Três Passos	<i>M. javanica</i>	J2
74	Três Passos	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>M. luci</i>	L3
75	Três Passos	<i>M. javanica</i>	J2
77	Três Passos	<i>M. javanica</i>	J2
79	Jaboticaba	<i>M. javanica</i>	J2
80	Jaboticaba	<i>M. incognita</i>	I2
81	Jaboticaba	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>Meloidogyne</i> sp.2	Sc2
82	Jaboticaba	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. javanica</i>	J2
		<i>Meloidogyne</i> sp.2	Sc2
83	Jaboticaba	<i>M. incognita</i>	I1
84	Jaboticaba	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>Meloidogyne</i> sp.2	Sc2
89	Palmeira das Missões	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>M. javanica</i>	J3
		<i>Meloidogyne</i> sp.3	A1
91	Porto Xavier	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>Meloidogyne</i> sp.2	Sc2
93	Porto Xavier	<i>M. javanica</i>	J2
97	Roque Gonzales	<i>M. javanica</i>	J2
98	Roque Gonzales	<i>M. javanica</i>	J2
99	Roque Gonzales	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. javanica</i>	J2
		<i>M. hapla</i>	H1
100	Roque Gonzales	<i>M. javanica</i>	J2
103	Porto Lucena	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. javanica</i>	J2
		<i>M. arenaria</i>	A2
		<i>M. incognita</i>	I1
104	Porto Lucena	<i>M. javanica</i>	J2
107	Porto Lucena	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>Meloidogyne</i> sp.3	A1
		<i>Meloidogyne</i> sp.2	Sc2
108	Porto Lucena	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>Meloidogyne</i> sp.2	Sc2
109	Santo Ângelo	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. javanica</i>	J2
		<i>M. arenaria</i>	A2
		<i>M. incognita</i>	I2

110	Santo Ângelo	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. javanica</i>	J2
		<i>Meloidogyne</i> sp.3	A1
111	Santo Ângelo	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>Meloidogyne</i> sp.3	A1
112	Santo Ângelo	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>Meloidogyne</i> sp.2	Sc2
113	Santo Ângelo	<i>M. javanica</i>	J3
114	Santo Ângelo	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>M. arenaria</i>	A1
115	São Luiz Gonzaga	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>Meloidogyne</i> sp.2	Sc2
116	São Luiz Gonzaga	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>M. arenaria</i>	A1
117	São Luiz Gonzaga	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>M. javanica</i>	J2a
118	São Luiz Gonzaga	<i>M. javanica</i>	J2
119	São Luiz Gonzaga	<i>M. incognita</i>	I2
		<i>M. javanica</i>	J2
121	Aratiba	<i>M. incognita</i>	I1
123	Aratiba	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>Meloidogyne</i> sp.3	A1
		<i>Meloidogyne</i> sp.2	Sc2
124	Aratiba	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>Meloidogyne</i> sp.3	A1
		<i>M. incognita</i>	I2
125	Aratiba	<i>M. javanica</i>	J2
126	Aratiba	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>Meloidogyne</i> sp.2	Sc2
128	Crissiumal	<i>M. javanica</i>	J3
		<i>M. javanica</i>	J2
129	Crissiumal	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>M. javanica</i>	J2a
130	Crissiumal	<i>M. javanica</i>	J2
		<i>Meloidogyne</i> sp.2	Sc2
133	Pelotas	<i>M. javanica</i>	J3
134	Pelotas	<i>M. javanica</i>	J3
