

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

ANGÉLICA MIAMOTO

Reação de *Macrotyloma axillare* cv. Java a fitonematoides e histopatologia da  
interação com *Meloidogyne javanica*

Maringá  
2018

ANGÉLICA MIAMOTO

Reação de *Macrotyloma axillare* cv. Java a fitonematoides e histopatologia da interação com *Meloidogyne javanica*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia  
Área de concentração: Proteção de Plantas

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cláudia Regina Dias Arieira

Maringá  
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

M618r Miamoto, Angélica  
Reação de *Macrotyloma axillare* cv. Java a fitonematoides e histopatologia da interação com *Meloidogyne javanica*. / Angélica Miamoto. -- Maringá, 2018.  
74 f. : il., color, figs., quadros, tabs.

Orientador(a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia Regina Dias Arieira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Área de Concentração: Proteção de Plantas, 2018.

1. *Macrotyloma axillare*. 2. Plantas antagonistas. 3. Rotação de culturas. I. Arieira, Cláudia Regina Dias, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Área de Concentração: Proteção de Plantas. III. Título.

CDD 21.ed. 631.58

AHS-CRB-9/1065

## FOLHA DE APROVAÇÃO

ANGÉLICA MIAMOTO

Reação de *Macrotyloma axillare* cv. Java a fitonematoides e histopatologia da interação com *Meloidogyne javanica*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

### COMISSÃO JULGADORA

---

Dr.<sup>a</sup> Andressa C. Z. Machado  
Instituto Agronômico do Paraná

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cláudia Regina Dias Arieira  
Universidade Estadual de Maringá

---

Prof. Dr. Willian Mário de Carvalho Nunes  
Universidade Estadual de Maringá

Aprovada em: 01 de Março de 2018.  
Local de defesa: Sala de Videoconferência, Bloco J-45, 2º piso, Campus Universitário da Universidade Estadual de Maringá.

## AGRADECIMENTO(S)

Agradeço à Universidade Estadual de Maringá, por disponibilizar a estrutura física e base de acesso à literatura utilizada para execução do trabalho. Como também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo fornecimento da bolsa de mestrado e apoio financeiro ao projeto.

À minha orientadora, Prof. Dra. Cláudia Regina Dias Arieira, por todo apoio, ensinamento e paciência, por estar sempre disponível para sanar minhas dúvidas e por ser uma orientadora tão presente e inspiradora. Obrigada!

Aos meus pais, Elite e Sergio, por todo amor e apoio, por não medirem esforços pela minha felicidade e realizações. Tudo o que faço é para vocês e por vocês.

Ao meu noivo, Gabriel, por ver sempre o melhor em mim, e por ser meu porto seguro.

Agradeço aos meus amigos de vida, Gabriela Mukaibata, Cláudia Sato, Tainara Carraro, Poliana Frigo, Heriksen Puerari e Michelly Cardoso, pela amizade, ajuda e companheirismo.

Aos amigos que fiz em Maringá, que me acolheram e tornaram-se minha segunda família, Thaísa Mioranza, Tiago Hachmann, Mitio Inagaki, Bruna Rissato e Rosana Miranda. Vocês tornaram a pós-graduação mais divertida!

E ao laboratório de nematologia do Instituto Agronômico do Paraná, em especial à Dra. Andressa Cristina Zamboni Machado, por me receber em seu laboratório, e por toda sua equipe pela ajuda no desenvolvimento de parte do trabalho aqui apresentado.

## Reação de java a fitonematoides e histopatologia da interação com *Meloidogyne javanica*

### RESUMO GERAL

Os fitonematoides causam perdas expressivas na cultura da soja, destacando-se os do gênero *Meloidogyne*, e as espécies *Pratylenchus brachyurus*, *Rotylenchulus reniformis* e *Heterodera glycines*. O manejo destes patógenos é complexo, e a rotação de culturas é uma prática indicada com a finalidade de reduzir o inóculo presente em áreas de cultivo. O uso de plantas antagonistas em sistema de rotação de culturas é uma alternativa para o controle de nematoides, e o modo de ação dessas plantas varia de acordo com a espécie. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a reação de *Macrotyloma axillare* cv. Java a *Meloidogyne incognita*, *P. brachyurus* e *R. reniformis*, bem como estudar a histopatologia da interação da planta com *M. javanica*. No primeiro capítulo, para avaliação da reação de java a três espécies de nematoides, plântulas de java e soja (testemunha) cv. CD 206, para *M. incognita*, e cv. Pintado, para o experimento com *P. brachyurus* e *R. reniformis*, foram inoculadas com uma população inicial (Pi) de 700 ovos e juvenis de segundo estágio (J2) de *M. incognita* e 700 espécimes de *P. brachyurus* e *R. reniformis*. A partir do 5º dia após a inoculação (DAI), quatro plantas de cada tratamento foram coletadas com intervalo de cinco dias, até o 30º dia, para coloração das raízes utilizando fucsina ácida, analisando posteriormente o número e desenvolvimento dos nematoides que penetraram as raízes. Realizou-se também o teste de suscetibilidade, sob dois níveis de inóculo, sendo estes de 700 ou 1000 ovos e J2 de *M. incognita* e 700 ou 1000 espécimes de *P. brachyurus* ou *R. reniformis*. As plantas foram mantidas em casa de vegetação por 60 DAI para *M. incognita* e *R. reniformis*, e por 80 DAI para *P. brachyurus*. Posteriormente, calculou-se o fator de reprodução (FR), em que  $FR = \text{População final (Pf)}/Pi$ . As plantas de java não impedem a penetração de *M. incognita* e *R. reniformis*, mas é resistente a ambos, uma vez que o fator de reprodução foi inferior a 1. Java é suscetível a *P. brachyurus*, entretanto, apresenta um fator de reprodução menor do que registrado para plantas de soja. No segundo capítulo, plantas de java e soja cv. Pintado foram inoculadas com uma Pi de 3000 ovos e J2 de *M. javanica*. Do 8º ao 30º DAI, quatro plantas de cada tratamento foram coletadas com intervalo de dois dias, para avaliar a penetração e desenvolvimento do nematoide, por meio da metodologia de coloração por fucsina ácida. Avaliou-se também a reprodução do nematoide, com dois níveis de inóculo, 700 ou 1000

ovos e J2 de *M. javanica*. As plantas foram mantidas em casa de vegetação por 60 dias e, posteriormente, calculou-se o FR. Para avaliação histológica, sementes da java e soja cv. Pintado foram inoculadas 15 dias após a germinação, com 1000 ovos e J2 de *M. javanica* por vaso. Quatro raízes de cada planta foram avaliadas aos 10, 15 e 30 DAI. Vinte fragmentos de raízes de aproximadamente 0,5 cm foram seccionados e mantidas em solução tampão, para posterior fixação, desidratação, infiltração e emblocamento em resina. Foram seccionados fragmentos de 1 a 2  $\mu\text{m}$  em ultramicrotomo e estas foram coloridas com azul de toluidina a 0,5% e observadas em microscópio de luz, para visualização do desenvolvimento do nematoide, bem como a formação de sítios de alimentação. Java é resistente a *M. javanica*, entretanto, possui potencial antagonista, uma vez que não impede que o mesmo penetre as raízes, mas afeta negativamente o ciclo de vida do mesmo, causando ineficiência no sítio de alimentação do nematoide.

**Palavras-chave:** *Macrotyloma axillare*. Antagonista. Rotação de culturas.

# Host suitability of java for phytonematodes and histopathology of interaction with *Meloidogyne javanica*

## ABSTRACT OVERVIEW

Phytohematodes cause significant losses in the soybean crop, especially *Meloidogyne* spp., and the species *Pratylenchus brachyurus*, *Rotylenchulus reniformis* and *Heterodera glycines*. The management of these pathogens is complex, and crop rotation is an indicated practice for the purpose of reducing the inoculum present in growing areas. The use of antagonistic plants in a crop rotation system is an alternative for the control of nematodes, and the mode of action of these plants varies according to the species. Thus, the present work had as objective to evaluate the reaction of *Macrotyloma axillare* cv. Java to *Meloidogyne incognita*, *P. brachyurus* and *R. reniformis*, as well as to study the histopathology of plant interaction with *M. javanica*. In the first chapter, to evaluate the reaction of java to three species of nematoids, seedlings of java and soybean (control) cv. CD 206, for *M. incognita*, and cv. For the experiment with *P. brachyurus* and *R. reniformis*, they were inoculated with an initial population (Pi) of 700 eggs and juveniles of second instar (J2) of *M. incognita* and 700 specimens of *P. brachyurus* and *R. reniformis*. From the 5th day after inoculation (DAI), four plants of each treatment were collected at intervals of five days, until the 30th day, for root staining using acid fuchsin, analyzing subsequently the number and development of the nematodes that penetrated the roots. The susceptibility test was carried out under two levels of inoculum, being 700 or 1000 eggs and J2 of *M. incognita* and 700 or 1000 specimens of *P. brachyurus* or *R. reniformis*. The plants were kept in greenhouse for 60 DAI for *M. incognita* and *R. reniformis*, and for 80 DAI for *P. brachyurus*. Subsequently, the reproduction factor (FR) was calculated, where  $FR = \text{Final population (Pf)} / \text{Pi}$ . The java plants do not prevent the penetration of *M. incognita* and *R. reniformis*, but it is resistant to both, since the reproduction factor was less than 1. Java is susceptible to *P. brachyurus*, however, it has a reproductive factor less than registered for soybean plants. In the second chapter, plants of java and soybean cv. Painted were inoculated with a Pi of 3000 eggs and J2 of *M. javanica*. From the 8th to the 30th DAI, four plants of each treatment were collected with interval of two days, to evaluate the penetration and development of the nematoid, through the methodology of acid fuchsin staining. The reproduction of the nematode with two levels of inoculum, 700 or 1000 eggs and J2 of *M. javanica* was also evaluated. The plants were kept in a greenhouse for 60 days

and, later, the FR was calculated. For histological evaluation, java and soybean seeds cv. Were inoculated 15 days after germination with 1000 eggs and J2 of *M. javanica* per pot. Four roots of each plant were evaluated at 10, 15 and 30 DAI. Twenty root fragments of approximately 0.5 cm were sectioned and held in buffer solution for further fixation, dehydration, infiltration and resin embedding. Fragments of 1 to 2  $\mu\text{m}$  were sectioned in ultramicrotome and these were stained with 0.5% toluidine blue and observed under a light microscope for visualization of nematode development, as well as formation of feeding sites. Java is resistant to *M. javanica*, however, it has an antagonistic potential, since it does not prevent it from penetrating the roots, but negatively affects its life cycle, causing inefficiency in the feeding site of the nematode.

**Keywords:***Macrotyloma axillare*. Antagonism. Crop rotation.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.1** Número de juvenis de segundo estágio (J2), terceiro (J3) e quarto (J4), e fêmeas de *Meloidogyne incognita*, número total de nematoides (TN) e nematoides por grama de raiz (NRG) no sistema radicular de java e soja cv. CD 206, avaliadas entre 5 e 30 dias após a inoculação (DAI), com 700 ovos e eventuais J2.....36
- Tabela 1.2** Número de fêmeas imaturas de *Rotylenchulus reniformis*, fêmeas adultas, nematoide total (TN) e nematoide por grama de raiz (NRG) no sistema radicular de java e soja cv. Pintado, avaliadas entre 5 e 30 dias após a inoculação (DAI), com 700 espécimes.....37
- Tabela 1.3** Número total de *Pratylenchus brachyurus* e nematoide por grama de raiz no sistema radicular de java e soja cv. Pintado, avaliadas entre 5 e 30 dias após a inoculação (DAI) com 700 espécimes.....38
- Tabela 1.4** Total de nematoides (TN), nematoide por grama de raiz (NRG) e fator de reprodução (RF) de *Meloidogyne incognita*, *Rotylenchulus reniformis* e *Pratylenchus brachyurus* em raízes de java e soja, inoculadas com população inicial (IP) de 700 ou 1000 espécimes.....41
- Tabela 2.1** Número de juvenis de segundo (J2), terceiro (J3) e quarto estágio (J4), fêmeas e total de *Meloidogyne javanica* no sistema radicular de java e soja cv. Pintado, avaliados entre o 8° e 30° dia após inoculação (DAI) com 3000 ovos do nematoide.....60
- Tabela 2.2** Número de juvenis de segundo (J2), terceiro (J3) e quarto estágio (J4), fêmeas e total de *Meloidogyne javanica*/g de raiz de java e soja cv. Pintado, avaliados entre o 8° e 30° dia após inoculação (DAI) com 3000 ovos do nematoide.....61
- Tabela 2.3** A Nematode total (NT), nematoide por grama de raiz (NG) e fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne javanica* em raízes de java e soja, inoculadas com população inicial (IP) de 700 e 1000 espécimes.....63

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1** *Meloidogyne incognita* em raízes de soja e java. A-1: J3/J4 de *M. incognita* iem soja aos DAI; A-2: Fêmea adulta de *M. incognita* soja aos 30 DAI; B-1: J3 de *M. incognita* em java aos 15 DAI; B-2: Fêmea imatura de *M. incognita* java aos 30 DAI.....39
- Figura 1.2** *Rotylenchulus reniformis* em raízes de soja e java. A-1: Fêmea adulta de *R. reniformis* em soja aos 15 DAI; A-2: Fêmea adulta de *R. reniformis* em soja aos 30 DAI; B-1: Fêmea imatura de *R. reniformis* em java aos 15 DAI; B-2: Fêmea imatura de *R. reniformis* em java aos 30 DAI.....39
- Figura 1.3** *Pratylenchus brachyurus* em raízes de soja e java. A-1: *P. brachyurus* em soja aos 15 DAI; A-2: *P. brachyurus* em soja aos 30 DAI; B-1: *P. brachyurus* em java aos 15 DAI; B-2: *P. brachyurus* em java aos 30 DAI.....40
- Figura 2.1** **A:** sítios de alimentação (células gigantes multinucleadas) formados pelo parasitismo de *M. javanica* em soja aos 10 DAI. **B:** sítio de alimentação (células gigantes sem núcleo aparente) formados pelo parasitismo de *M. javanica* em java aos 10 DAÍ. **C:** sítios de alimentação (células gigantes multinucleadas) formados pelo parasitismo de *M. javanica* em soja aos 15 DAI. **D:** *M. javanica* parasitando raiz de java aos 15 DAI, desorganização celular e sítio de alimentação mal estabelecido. **E:** Fêmea de *M. javanica* parasitando raiz de soja aos 30 DAI, seis células gigantes granulosas e multinucleadas. **F:** Fêmea de *M. javanica* deformada em raiz de java aos 30 DAÍ. \*= células gigantes, N= nematoide, x= desorganização celular.....65

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	1
<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	3
A cultura da soja .....	3
O gênero <i>Meloidogyne</i> .....	4
<i>Pratylenchus brachyurus</i> .....	6
<i>Rotylenchulus reniformis</i> .....	8
Manejo de nematoides .....	9
Controle Genético .....	9
Controle Químico .....	10
Controle Biológico .....	11
Rotação de Culturas .....	13
Rotação de Culturas com Plantas Antagonistas .....	14
<i>Macrotyloma axillare</i> cv. Java .....	15
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	16
<b>CAPÍTULO 1: Antagonistic Effects of Java against Plant Parasitic Nematodes</b> .....	29
ABSTRACT .....	30
RESUMO .....	31
INTRODUÇÃO .....	32
MATERIAL AND METHODS .....	33
RESULTS .....	35
DISCUSSION .....	41
CONCLUSION .....	45
REFERENCES .....	45

<b>CAPÍTULO 2: Desenvolvimento e histopatologia de <i>Meloidogyne javanica</i> em <i>Macrotyloma axillare</i> cv. Java.....</b>	<b>51</b>
RESUMO .....	52
ABSTRACT .....	53
INTRODUÇÃO.....	54
MATERIAL E MÉTODOS.....	55
RESULTADOS .....	57
DISCUSSÃO.....	66
CONCLUSÕES .....	69
REFERÊNCIAS .....	69

## INTRODUÇÃO GERAL

Os fitonematoides causam danos expressivos em diferentes culturas, incluindo a soja, uma das principais commodities produzidas mundialmente (HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2011; FERRAZ, 2001). Entre as espécies que mais prejudicam a sojicultura no Brasil, destacam-se os nematoides das galhas (*Meloidogyne javanica* e *M. incognita*), das lesões radiculares (*Pratylenchys brachyurus*), do cisto (*Heterodera glycines*) e o nematoide reniforme (*Rotylenchulus reniformis*) (DIAS et al., 2010).

O gênero *Meloidogyne* possui as principais espécies de importância mundial para a cultura da soja, sendo *M. javanica* de ocorrência generalizada e *M. incognita* mais importante em áreas onde o café ou algodão foram cultivados anteriormente (MANZOTTE et al., 2002). Devido à sua ampla distribuição e ampla gama de hospedeiros, sejam plantas economicamente importantes ou até mesmo plantas daninhas, o manejo deste gênero é dificultado, podendo inviabilizar o uso agrícolas em áreas com altas infestações (RIBEIRO et al., 2002).

A espécie *P. brachyurus* também se destaca mundialmente por sua agressividade e alta gama de hospedeiros, causando danos tanto em culturas anuais quanto perenes (FERRAZ, 2006; GOULART, 2008). Em áreas em que o milho é utilizado em sistema de sucessão com a soja, o parasitismo de *P. brachyurus* é mais comum, uma vez que ambas as culturas são hospedeiras do patógeno, promovendo o aumento da população do mesmo e prejudicando o rendimento de ambas as culturas (INIMOTO, 2011; CHIAMOLERA et al., 2012).

Já a espécie *R. reniformis* é importante em regiões produtoras de soja em que cultivou-se anteriormente o algodão, que é o seu principal hospedeiro (ASMUS, 2005; ROBINSON, 2007). Um dos fatores que pode limitar o manejo deste nematoide é que os sintomas se assemelham com deficiência nutricional ou compactação do solo, e não é possível observar estruturas nas raízes que demonstrem a infecção, principalmente em condições de fertilidade adequada do solo, em que pode ocorrer a ausência de qualquer sintoma aparente no sistema radicular (ASMUS, 2005; ASMUS; ISHIMI, 2009).

Desse modo, o manejo de nematoides deve ser planejado com a integração de diversos métodos, como a rotação de culturas, controle químico, biológico, uso de genótipos resistentes e evitando a entrada do patógeno na área (RIBEIRO et al., 2010).

A rotação de culturas é muito estudada quanto à eficiência no controle de nematoides e consiste em alternar culturas não hospedeiras, má hospedeiras, resistentes ou antagonistas com culturas suscetíveis (FILETI et al., 2011). Entretanto, para a implantação desse sistema, é necessário identificar as espécies de nematoides presentes na área, pois mesmo plantas com potencial de controle podem apresentar suscetibilidade a diferentes espécies de nematoides (STARR; MARCER, 2009).

O uso de plantas antagonistas em sistema de rotação de culturas é bastante estudado para o manejo de nematoides e o modo de ação destas plantas pode variar de acordo com a espécie (NYCZEPIR; THOMAS, 2009). Algumas delas produzem compostos alelopáticos que podem repelir o nematoide, ou mesmo permitir a penetração no sistema radicular mas inibir a alimentação e o ciclo de vida do mesmo, devido a mecanismos de resistência, além de fornecer matéria orgânica para o solo (ALSELMY, 2009; NYCZEPIR; THOMAS, 2009).

O exemplo mais conhecido de planta antagonista no controle de nematoides é a *Crotalaria* spp. Alguns trabalhos na literatura mostram a eficiência de *C. spectabilis* no controle de *M. javanica*, *M. incognita* e *P. brachyurus* (WANG et al., 2002; INOMOTO et al., 2006; ROSA et al., 2013; VEDOVETO et al., 2013). Outro exemplo de antagonismo é a produção da substância L-dopa por espécies diferentes de mucunas (*Mucuna* spp.) (BARBOSA et al., 1999), a qual é comprovadamente antagonista a *Meloidogyne* spp., *H. glycines* e outros nematoides (BARBOSA et al., 1999; SANTANA et al., 2012).

Algumas espécies de leguminosas ainda são pouco estudadas, como é o caso do java (*Macrotyloma axillare* cv. Java), proveniente de um cruzamento entre duas cultivares de *M. axillare*, a Archer e a Guatá (Paiva et al., 2008). O potencial antagonista foi demonstrado por Miamoto et al. (2016), uma vez que a penetração de *M. javanica* por grama de raiz é elevado, mas o FR (fator de reprodução) é baixo, o que indica que o nematoide penetra a raiz, algumas vezes até mais do que na própria soja, mas não completa o seu ciclo de vida. Entretanto, a suscetibilidade a outros nematoides e o modo de ação dessa planta ainda não foi estudado. Assim,

o presente trabalho teve como objetivo avaliar a reação de java a *M. incognita*, *P. brachyurus* e *R. reniformis*, bem como estudar a histopatologia da interação da planta com *M. javanica*.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### A cultura da soja

A produção de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma das atividades econômicas mais importantes no cenário do agronegócio mundial. O sucesso do cultivo dessa oleaginosa é decorrente do desenvolvimento e estruturação do mercado internacional relacionados com o comércio da cultura, além da consolidação da mesma como fonte de proteína vegetal, atendendo à demanda de produtos para o consumo humano e animal, além da tecnologia que permite a expansão e exploração da soja mundialmente (HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2011).

A soja cultivada hoje é diferente de seus ancestrais, que eram plantas de crescimento rasteiro, proveniente da costa leste da Ásia, principalmente ao longo do rio Yangtse, localizado na China. A evolução da cultura ocorreu devido ao surgimento de plantas provenientes de cruzamentos naturais entre espécies selvagens, que foram domesticadas e melhoradas por cientistas da China antiga (EMBRAPA, 2010).

Atualmente, a área plantada de soja no mundo é superior a 120 milhões de hectares, com produção próxima a 351,311 milhões de toneladas (USDA, 2017), sendo o maior produtor do grão os Estados Unidos, cuja produção na safra 2016/17 foi de 117,208 milhões de toneladas, em uma área de 33,482 milhões de hectares (USDA, 2017). O Brasil é o segundo maior produtor do grão, com produção de 113,923 milhões de toneladas, em uma área de 33,890 milhões de hectares, com estimativa de crescimento de 3,1% para a próxima safra (CONAB, 2017).

Entre os estados brasileiros produtores de soja, destacam-se o Mato Grosso, com 30,514 milhões de toneladas em 9,323 milhões de hectares, seguido pelo Paraná, com 19,534 milhões de toneladas em 5,250 milhões de hectares, e Rio Grande do Sul, com 18,714 milhões de toneladas em 5.570 milhões de hectares (CONAB, 2017).

O maior estado produtor no Brasil está localizado no cerrado, área que já foi considerada improdutiva para a agricultura pelos seus solos ácidos e pobres em nutrientes, além de longos períodos de seca (MARIANO, 2010). A expansão da sojicultura nessa região ocorreu na década

de 70, quando houve aumento significativo da demanda pelo grão no mercado mundial e os programas governamentais incentivavam a compra de insumos agrícolas, estimulando os produtores rurais e as empresas de pesquisas, que investiram em tecnologias para o desenvolvimento de novas variedades que fossem adaptadas ao clima da região (SMALING et al., 2008; BEZERRA et al., 2015). Assim, o cultivo de soja em solos do cerrado (arenosos) apresenta potencial produtivo satisfatório, e até superior aos solos argilosos, considerados mais produtivos, desde que o manejo seja adequado em relação à adubação nutricional e conservação do solo (SANTOS et al., 2008; KANEKO et al., 2015).

Mesmo com todas as tecnologias envolvidas na produção da soja, alguns fatores limitam a produção, como as doenças, incluindo fungos fitopatogênicos, bactérias, vírus e nematoides. Ainda, o número de fitopatógenos tende a aumentar, devido à expansão rápida do plantio de soja como monocultura (EMBRAPA, 2010; JUHÁSZ et al., 2013).

Em relação aos nematoides fitoparasitas, estes são conhecidos por causarem perdas expressivas de rendimento em diversas culturas, incluindo a soja (FERRAZ, 2001). No Brasil, os nematoides que causam mais danos para a sojicultura são os do gênero *Meloidogyne* spp., e as espécies *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev e Sch. Stekhoven, *Heterodera glycines* Ichinohe e *Rotylenchulus reniformis* Linford e Oliveira (DIAS et al., 2007; DIAS et al., 2010).

### **O gênero *Meloidogyne***

Entre os nematoides das galhas, as espécies mais importantes para a cultura da soja no Brasil são *M. javanica* (Treub) Chitwood e *M. incognita* (Kofoid e White) Chitwood. A espécie *M. javanica* é de ocorrência generalizada, já *M. incognita* predomina nas áreas onde houve cultivo anterior com café ou algodão (DIAS et al., 2010). Devido à frequência dos nematoides das galhas, com distribuição generalizada, há cada vez mais dificuldade de viabilizar o uso agrícola de áreas infestadas (RIBEIRO et al., 2002), principalmente pela polifagia dos mesmos, que infectam praticamente todos os tipos de plantas economicamente importantes, incluindo ainda as plantas daninhas, o que dificulta a tomada de decisão para o manejo (MANZOTTE et al., 2002).

No levantamento realizado por Castro et al. (2003), foram detectadas 78 populações de *Meloidogyne* spp. em nove estados produtores de soja do Brasil, sendo 64,1% dessas áreas

infestadas por *M. javanica* e 21,1% por *M. incognita*, mostrando a importância das duas espécies. Vale salientar que, além das áreas produtoras de soja, as mesmas encontram-se amplamente disseminadas nas regiões produtoras de outras culturas, incluindo cana-de-açúcar, hortaliças e frutíferas (CHAVES et al., 2009; CARNEIRO et al., 2008; DIAS-ARIEIRA et al., 2010). A presença de *Meloidogyne* spp. em matas nativas também tem sido constatada em diferentes pesquisas, indicando que as mesmas são nativas do Brasil (ANTES et al., 2012; SILVA et al., 2014).

Em áreas produtoras de soja infestadas pelo nematoide das galhas, estimam-se prejuízos de 10% na produção e, no caso de cultivares suscetíveis e condições climáticas favoráveis, as perdas podem chegar a até 90% (DIAS-ARIEIRA;CHIAMOLERA, 2011). No Brasil, essas espécies são constatadas em diferentes regiões, principalmente na Central, causando danos expressivos em lavouras de Goiás e Mato Grosso do Sul (EMBRAPA, 2011). No estado do Paraná, os nematoides das galhas também afetam a produção de soja, principalmente no Oeste do estado, que é uma das maiores regiões produtoras do grão (ROESE et al., 2001).

O ciclo de vida desse nematoide inicia-se pelo ovo, passando pelo desenvolvimento embrionário e por ecdises, dando origem aos estádios de J2, J3, J4 (juvenis de segundo, terceiro e quarto estágio, respectivamente) e fêmea adulta, sendo o J2 o estágio infectivo. A duração do ciclo é dependente de fatores ambientais, bem como de cada espécie, mas, no geral, o ciclo dura entre 21 a 42 dias (CASTAGNONE-SERENO et al., 2013). No decorrer de quatro a seis semanas, as fêmeas já adultas produzem em média 400 a 500 ovos, quando em condições favoráveis. Esses ovos são depositados junto ao corpo da fêmea, em uma massa de ovos com aspecto gelatinoso, excretada pelo próprio nematoide e, sob condições adversas, podem atuar como mecanismo de sobrevivência, uma vez que em situações de secas prolongadas, a massa gelatinosa se desidrata, suspendendo o desenvolvimento embrionário no interior dos ovos temporariamente (FERRAZ, 2001).

Durante o processo parasitário, o nematoide estabelece uma complexa relação com as células do hospedeiro, mediada por substâncias secretadas pelo nematoide, as quais alteram o desenvolvimento da célula do hospedeiro, bem como a expressão gênica. Como resultado, as células parasitadas tornam-se grandes e multinucleadas, devido à hiperplasia e hipertrofia, e são denominadas “células gigantes” (ABAD et al., 2003; DUBREULI et al., 2007; ALMEIDA-

ENGLER; GHEYSEN, 2013). Além da hipertrofia e hiperplasia celular, ocorre a desorganização e ruptura de elementos do xilema e de células primárias do floema. Os sítios de alimentação são induzidos adjacentes a tecidos vasculares e constituem de grupos de duas a seis células gigantes. Essas células apresentam o citoplasma denso e, devido à hiperplasia dos tecidos adjacentes às células gigantes, há a expansão do tecido radicular, formando-se nodosidades, denominadas galhas, em tamanho e número que varia de acordo com a suscetibilidade da cultivar e da densidade populacional do nematoide (MAISTRELLO et al., 2010; CASTAGNONE-SERENO et al., 2013).

As galhas surgem nas raízes primárias e secundárias e, em infecções mais severas, o sistema radicular fica totalmente atrofiado e reduzido, dificultando a absorção de nutrientes e água (EMBRAPA, 2005). Como consequência, na parte aérea observam-se sintomas de manchas em reboleiras, com plantas amareladas e com o crescimento comprometido. Ainda, as folhas dessas plantas podem apresentar manchas cloróticas ou necrose entre as nervuras, denominadas “folhas carijó”. No florescimento, nota-se o abortamento de vagens e amadurecimento prematuro das plantas (GRIGOLLI; ASMUS, 2013). Contudo, vale ressaltar que nem sempre a soja cultivada em solos infestados apresenta sintomas visíveis na parte aérea, isto porque geralmente os sintomas são mais frequentes sob alta população do nematoide e em plantas debilitadas (BRIDA et al., 2016).

### ***Pratylenchus brachyurus***

No Brasil, a espécie *P. brachyurus* tem causado impactos econômicos crescentes na cultura da soja (DIAS et al., 2010). O gênero *Pratylenchus* é o segundo de maior importância mundial, ficando atrás apenas de *Meloidogyne* spp. Os danos causados são grandes nas mais variadas culturas além da soja, como milho, algodão, cana-de-açúcar, forrageiras, frutíferas e hortaliças (GOULART, 2008).

A espécie *P. brachyurus* se destaca mundialmente, pois o nematoide apresenta ampla distribuição geográfica, bem como alto grau de polifagia e ação patogênica agressiva em diversas culturas de importância econômica, tanto anuais quanto perenes (FERRAZ, 2006). Essa ampla distribuição geográfica está relacionada com a presença de plantas hospedeiras e com condições

abióticas favoráveis ao nematoide, como umidade, temperatura e textura do solo (CASTILHO; VOVLAS, 2007).

A ocorrência de *P. brachyurus* nas regiões produtoras de soja no Brasil causa prejuízos significativos na produção de grãos, diminuindo o rendimento dos mesmos, causando perdas estimadas em 30%, principalmente nas regiões dos estados de Goiás e Mato Grosso (GOULART et al., 2008). Os casos de ocorrência de *P. brachyurus* parasitando soja estão relacionados, principalmente, com áreas em que o milho é utilizado em sucessão, uma vez que o mesmo também é hospedeiro dessa espécie. Assim, o cultivo de milho em áreas já infestadas promove o aumento da população do nematoide, prejudicando ambas as culturas (INOMOTO, 2011; CHIAMOLERA et al., 2012).

Outros fatores que contribuem para o aumento da população desse nematoide é a adoção do sistema de plantio direto, que mantém as condições do solo adequadas para o nematoide, o uso frequente de solos com textura arenosa ou média e o desbalanço nutricional, além do fator agravante que é a ocorrência da associação de outros fitonematoides e de outros patógenos de solo, principalmente *Fusarium oxysporum* Link ex Grey, 1821 (RIBEIRO, 2009).

Os nematoides do gênero *Pratylenchus* são classificados como endoparasitas migradores e o ciclo de vida inicia-se no ovo, passando por quatro ecdises até chegar à forma adulta, sendo que todos os estádios após a eclosão dos juvenis de segundo estágio são infectivos. A ovoposição acontece no interior do sistema radicular e todo o ciclo biológico pode ocorrer no interior das raízes, mas os nematoides migram para o solo quando as condições nas raízes se tornam desfavoráveis (TIHOHOD, 1993). O ciclo de vida varia entre quatro a oito semanas, dependendo da temperatura e umidade do solo e da planta hospedeira. O tempo para este nematoide completar o ciclo de vida varia de quatro a oito semanas, de acordo com as condições de temperatura, umidade e espécie hospedeira (CASTILLO; VOVLAS, 2007; RITZINGER; COSTA, 2004;).

A movimentação dentro da raiz desorganiza e destrói as células, causando lesões, que, além de prejudicar o desenvolvimento da planta, podem ser porta de entrada para outros patógenos, como fungos e bactérias (HENNING et al., 2005). Portanto, a desordem e mal funcionamento dos processos de crescimento do sistema radicular, bem como a exploração do solo para obter nutrientes e água, têm como consequência efeitos graves sobre o crescimento e desenvolvimento da planta hospedeira (HAEGEMAN et al., 2012).

A infecção por esse nematoide em soja acarreta em sintomas típicos na planta hospedeira, caracterizados por lesões marrom-avermelhadas que evoluem para necrose, causadas pela injeção de substâncias provenientes das glândulas esofagianas no processo de alimentação e movimentação do mesmo no interior do parênquima cortical (FERRAZ, 2006; GOULART, 2008).

### ***Rotylenchulus reniformis***

O principal hospedeiro de *R. reniformis* no Brasil é o algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) (ROBINSON, 2007), enquanto que, na cultura da soja, este nematoide é considerado importante em algumas regiões produtoras do país, principalmente naquelas em que se cultivou anteriormente o algodão, com destaque para o Centro-Oeste do Brasil (ASMUS, 2005; DIAS et al., 2010), podendo levar à perdas de até 32% na produção de soja (ASMUS et al., 2003; ASMUS, 2008).

Assim como os nematoides citados anteriormente, *R. reniformis* passa por quatro fases juvenis. O J1 é formado pelo processo de desenvolvimento embrionário e passa pela primeira ecdise ainda dentro do ovo. O estágio J2, após a eclosão, passa por mais duas ecdises, formando J3 e J4, em que ainda estão imaturos e não se alimentam. Finalmente, o J4 passa pela última ecdise, chegando à fase adulta. Na fase adulta, observam-se fêmeas e machos, entretanto, os machos permanecem apenas no solo e não se alimentam nem parasitam as plantas (SIYAKUMAR; SESHADRJ, 1971).

Ao contrário do que se observa para outros gêneros de nematoides, em que a infecção ocorre na fase J2, para *R. reniformis*, as fêmeas imaturas, com formato ainda vermiforme, constituem a fase infectiva, que migram no solo em busca do hospedeiro e, ao o encontrarem, penetram a parte anterior do corpo no córtex radicular. Após a infecção, as fêmeas estabelecem o sítio de alimentação, por meio de reações que induzem o aparecimento de células nutritoras no periciclo. As fêmeas são consideradas semiendoparasitas sedentárias e, quando atingem a maturidade sexual, a região posterior do corpo, que fica fora do sistema radicular, toma formato de rim. Uma fêmea pode ovopositar de 50 a 120 ovos em massas de ovos, sendo que a reprodução se dá por anfimixia, por isso machos são muito comuns e podem aparecer junto às fêmeas maduras na superfície da raiz. A duração do ciclo de vida pode variar dependendo das

condições ambientais e do hospedeiro, sendo em torno de quatro semanas (SIYAKUMAR; SESHADRJ, 1971; DIAS et al., 2010).

As áreas de soja infestadas por este nematoide apresentam como sintoma a redução de tamanho, bem como desuniformidade na lavoura, que podem se assemelhar com deficiência nutricional ou compactação do solo, e não apresentam sintomas visíveis em reboleira (ASMUS; ISHIMI, 2009). Não é possível observar estruturas nas raízes que demonstrem sua infecção, como ocorre para os nematoides das galhas, entretanto, devido ao parasitismo, o sintoma mais comum nas raízes é a redução do tamanho e volume (DIAS et al., 2010). Ainda, em solos com textura argilosa e com fertilidade adequada, pode ocorrer ausência de sintomas aparentes no sistema radicular, o que dificulta a percepção da presença deste nematoide na área (ASMUS, 2005).

### **Manejo de nematoides**

O manejo de nematoides é complexo e deve ser planejado com integração de diversos métodos para melhorar a eficiência, sendo recomendado a rotação de culturas, o uso de material resistente, o controle químico e biológico, além da exclusão, tentando evitar a infestação em áreas isentas de espécies ou raças (ALMEIDA et al., 2005; RIBEIRO et al., 2010).

O objetivo do manejo de nematoides é manter a densidade populacional abaixo do nível de dano econômico, uma vez que a eliminação total é muito difícil. Assim, para iniciar um sistema de manejo, é necessário, primeiramente, identificar as espécies presentes em determinada área, uma vez que cada uma possui suas particularidades e está relacionada com a cultura hospedeira, bem como com a região e condições ambientais (ROESE et al., 2001).

### **Controle Genético**

O controle genético de nematoides por meio do uso de cultivares resistentes é uma das alternativas mais eficientes e requer baixo nível tecnológico por parte do produtor (SILVA, 2001). Entretanto, um fator limitante para o uso de cultivares resistentes é a baixa disponibilidade de fontes de resistência (FREITAS et al., 2001; FERRAZ, 2006). A minoria dessas fontes encontradas em bancos de germoplasma de espécies cultivadas é satisfatória e a base genética

presente em cultivares resistentes é muito restrita. Isso faz com que as pesquisas e a liberação de tais cultivares sejam lentas, sendo mais comum cultivares moderadamente resistentes, que toleram o ataque de nematoides, conseguindo se estabelecer no campo, mas que não impedem que estes penetrem no sistema radicular e se multipliquem (SILVA, 2001).

Cultivares de soja que possuem resistência aos nematoides inibem o ciclo de vida dos mesmos, diminuindo a produção de ovos e o número de juvenis em estágio infectivo (ASMUS et al., 2001). Ainda, quando os juvenis conseguem penetrar as raízes de cultivares resistentes, não conseguem estabelecer o parasitismo de forma satisfatória (CARPENTIERI-PÍPOLO et al., 2005), devido aos mecanismos de defesa da planta manifestados após a infecção, impedindo o desenvolvimento do patógeno por meio da reação de hipersensibilidade (RH) (DHANDAYDHAM et al., 2008).

### **Controle Químico**

A utilização de nematicidas pode elevar a produtividade em média em 10% e deve ser considerada em condições em que não há possibilidades do uso de outras práticas de manejo (INOMOTO; ASMUS, 2006). Entretanto, um fator limitante para o uso do mesmo é a remoção de muitos produtos do mercado, além do efeito temporário dos produtos, que protegem a planta por tempo limitado (CHEN; DICKSON, 2004; LOPES et al., 2007; HALLMANN et al., 2009).

O tratamento de sementes é uma das principais alternativas de controle químico. No mercado, alguns produtos visando o tratamento de sementes se destacam, como aqueles à base de avermectina (abamectina) e metilcarbamato de oxima (tiodicarbe) (KUBO et al., 2012; RIBEIRO et al., 2012). O tratamento de sementes protege a planta ainda nos estágios de germinação, em média até 30 dias, diminuindo o crescimento populacional do nematoide, pois o mesmo não consegue penetrar a raiz, podendo morrer por inanição (BESSI et al., 2010). Além disso, o tratamento de sementes permite a redução de custos, pois representa apenas 0,5% do custo de produção, ou seja, ainda é economicamente viável, principalmente se comparado à aplicação de produtos químicos em sulco de plantio ou pulverizados (HENNING, 2005; BESSI et al., 2010).

O uso de nematicidas em tratamento de sementes tem apresentado bons resultados no controle de nematoides, com eficiência comprovada no controle de *P. brachyurus*, *Meloidogyne* spp., *H. glycines* e *R. reniformis* em soja e algodão (BESSI et al., 2010; HIGAKI; ARAUJO,

2012; BORTOLINI et al., 2013; VITTI et al., 2014; RIBEIRO et al., 2014; HOMIAKI et al., 2017).

## **Controle Biológico**

O controle biológico é uma alternativa promissora para o manejo de nematoides e tem como objetivo diminuir a população dos mesmos com a utilização de outros organismos vivos. Estes organismos podem ocorrer naturalmente no solo ou serem introduzidos pelo homem, agindo como inimigos naturais por meio de predação, parasitismo, competição por alimento e espaço, antibiose ou por indução de resistência (VEZON et al., 2005; MACHADO et al., 2012; ZHENG et al., 2016).

Os principais agentes de controle biológico de nematoides são as bactérias e fungos. Entre esses, destaca-se a utilização das bactérias do gênero *Bacillus* e os fungos *Trichoderma* spp. (OLMEDO-MONFIL; CASAS-FLORES, 2014).

*Bacillus* spp. são microrganismos com diferentes formas de ação sobre os nematoides, como a secreção de toxinas que atuam na formação da cutícula dos ovos de nematoides do gênero *Meloidogyne*, inibindo a eclosão dos mesmos, ou atuando diretamente sobre a motilidade e mortalidade dos juvenis (MACHADO et al., 2012). Além disso, tais bactérias colonizam o rizoplane e a rizosfera, onde se alimentam dos exsudatos radiculares produzidos pela planta e liberam metabólitos secundários e, assim, modificam a rizosfera, comprometendo a localização das raízes pelos nematoides (SILVA et al., 2011). Vale salientar que algumas espécies de *Bacillus* induzem a produção de proteases na planta, induzindo os sistemas de defesa da mesma ao ataque de patógenos (LIAN et al., 2007).

A eficiência destas bactérias para o controle de nematoides foi demonstrada em patossistemas envolvendo *Meloidogyne* spp., reduzindo a eclosão de ovos e a reprodução dos mesmos (PANKAJ et al., 2010; SHARON et al., 2011; LUDWIG et al. 2013; YU et al., 2015), além de proporcionar mortalidade superior a 90% (OLIVEIRA et al., 2009). A aplicação de *Bacillus* spp. em suspensão aquosa também promoveu o crescimento de plantas, deixando-as mais vigorosas e menos suscetíveis aos danos causados pelos nematoides das galhas (CARDOZO; ARAÚJO, 2011).

Fungos do gênero *Trichoderma* também são caracterizados pela forma de ação variada, como a produção de enzimas que estão envolvidas no parasitismo de ovos e juvenis dos nematoides, como quitinases, lipases, proteases e glucanases (SHARON et al., 2011; FREITAS et al., 2012), interferência nos exsudatos radiculares liberados pelas plantas, alterando a atração dos juvenis pela planta e indução de resistência (HARMAN et al., 2004; SHARON et al., 2011).

Há registros na literatura de que estes fungos podem inibir a eclosão de nematoides do gênero *Meloidogyne* em até 97%, ocorrendo ainda mortalidade de até 98% e redução no número de fêmeas em até 88% (COSTA, 2001; DEVRAJAN; SEENIVASAN, 2002; ZHANG et al., 2015). Também foi observado que *Trichoderma* spp. podem atuar sobre *P. brachyurus*, reduzindo a penetração e a reprodução do nematoide, causando a morte de juvenis e aumentando a atividade catalítica de soja (KATH et al., 2017).

Apesar das pesquisas mais frequentes e avançadas para o uso destes dois organismos citados anteriormente, outros têm apresentado potencial para o controle de nematoides na cultura da soja, podendo-se citar a bactéria *Pasteuria* sp., conhecida pelo seu potencial no controle de nematoides e pela elevada especificidade quanto ao organismo alvo (DAVIES et al., 1988; WILLIAMS et al., 1989). Fêmeas de *Meloidogyne* spp. parasitadas por *P. penetrans* produzem poucos ovos ou, até mesmo, nenhum, além de perderam a capacidade de locomoção e penetração (LIU et al., 2017). A utilização dessa bactéria reduz populações de *Meloidogyne* spp. nas raízes e no solo, além de reduzir a formação de galhas, melhorando assim a condição da raiz em áreas infestadas (KOKALIS-BURELLE, 2015).

O fungo *Pochonia* sp., principalmente a espécie *P. chlamydosporia* Zare e Gams, também tem sido pesquisado para uso comercial no controle de nematoides, sendo caracterizado como parasita facultativo de ovos de *Meloidogyne* spp. (MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013). Este fungo é eficiente no controle de nematoides das galhas, reduzindo em até 62% os ovos desse nematoide (KHAN et al., 2005; DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2008; FERNANDES et al., 2014). As exoenzimas liberadas pelo fungo desintegram a camada vitelínica dos ovos do nematoide e causam dissolução enzimática das camadas de quitina e lipídios dos ovos, seguida de penetração da hifa (MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013). O fungo também pode colonizar as massas de ovos que ficam expostas na superfície da raiz das plantas parasitadas, diminuindo a reprodução dos nematoides (NORDBRING-HERTZ et al., 2002; MUKHTAR; PERVAZ, 2003).

## **Rotação de Culturas**

A rotação de culturas é uma prática indicada com a finalidade de reduzir o inóculo de nematoides presente em uma área, por meio da alternância de culturas não hospedeiras, má hospedeiras, resistentes ou antagonistas com culturas suscetíveis (FILETI et al., 2011; PINHEIRO et al., 2012).

Para a implantação da rotação de culturas, primeiramente é necessário identificar as espécies de nematoides presentes na área, uma vez que, mesmo plantas com potencial para o controle, podem apresentar suscetibilidade variável frente às diferentes espécies de nematoides. Ainda, nem sempre é possível utilizar espécies com interesse comercial na rotação de culturas, uma vez que cultivares portadoras de genes de resistência raramente possuem as características agronômicas desejáveis pelo produtor (STARR; MERCER, 2009).

O milho (*Zea mays* L.), por exemplo, é a principal cultura utilizada em sistema de sucessão ou rotação em áreas de soja, entretanto, não é recomendado em sistema de rotação de culturas em áreas infestadas com *P. brachyurus*, pois é suscetível ao nematoide, promovendo o aumento contínuo da densidade populacional e prejudicando a próxima safra de soja (INOMOTO, 2011). É necessário também alternar espécies vegetais que apresentem características importantes, como estrutura e volume do sistema radicular distintos, com a finalidade de melhorar a exploração do solo, além de utilizar uma ou mais espécies com capacidade de produção de resíduos, como cobertura de solo e acúmulo de matéria orgânica (FANCELLI, 2009; MANZOTTE et al., 2002).

Para que a rotação de culturas seja eficiente, é necessário seguir alguns parâmetros, como a alternância de espécies vegetais que apresentem características desejadas em relação às exigências nutricionais diferentes; estrutura e volume de sistema radicular distintos para melhor exploração do solo; alternância de espécies que não apresentem suscetibilidade a diferentes espécies de nematoides; e utilizar uma ou mais plantas com capacidade de produção de matéria orgânica e cobertura de solo (FANCELLI, 2009).

## **Rotação de Culturas com Plantas Antagonistas**

O uso de plantas antagonistas é uma vertente muito estudada para o manejo de nematoides. Pode-se definir uma planta antagonista como aquela que possui substâncias que repelem ou inibem a ação de outros organismos (CHITWOOD, 2002).

O modo de ação das plantas antagonistas varia de acordo com a espécie, destacando-se a produção de compostos alelopáticos que repelem o nematoide, ou, ainda, plantas que permitem a penetração do nematoide no sistema radicular, mas inibem o ciclo de vida do mesmo, por meio de mecanismos de resistência (NYCZEPIR; THOMAS, 2009). Além disso, algumas espécies de plantas antagonistas podem fornecer matéria orgânica para o solo, favorecendo os microrganismos que podem ajudar no controle de nematoides, como fungos e bactérias, além de microrganismos que melhoram as características químicas do solo (ANSELMINI, 2009).

O exemplo mais estudado e utilizado de planta antagonista no manejo de nematoides é a *Crotalaria* sp., em que diversas espécies foram comprovadas como eficientes no controle de *M. javanica*, *M. incognita*, *P. brachyurus* e *R. reniformis* (MARLA et al., 2008; SANTANA et al., 2012; ROSA et al., 2013; VEDOVETO et al., 2013; DEBIASI et al., 2016; MIAMOTO et al., 2016). A crotalária tem a capacidade de atuar como planta armadilha, permitindo que o nematoide penetre em suas raízes nos estádios infectivos, entretanto, limitando o desenvolvimento do mesmo no interior do sistema radicular (WARNKE et al., 2008; CURTO et al., 2015; MIAMOTO et al., 2016). Além disso, essas plantas acumulam metabólitos secundários nas raízes com ação nematicida, como o alcaloide pirrolizidínico (monocrotalina) (COLEGATE et al., 2012).

Entretanto, mesmo a *Crotalaria* sp. sendo um dos gêneros mais estudados e indicados no manejo de nematoides, são necessárias precauções, uma vez que nem todas as espécies são indicadas para todos os gêneros de nematoides. Neste contexto, há relatos que *C. juncea* L. permite a reprodução de *P. brachyurus* (WANG et al., 2002; BRAZ et al., 2016) e *C. ochroleuca* G. Don., de algumas raças de *H. glycines* (CARDOSO et al., 2016).

Outras plantas apresentam potencial antagonista, com modo de ação bem esclarecido, como é o caso de *Tagetes* spp., que produzem uma substância denominada  $\alpha$ -tertienil, com efeito direto sobre nematoides, principalmente para espécies de *Pratylenchus* e *Meloidogyne* (BAKKER et al., 1979; DEBPRASAD et al., 2000). As espécies de *Tagetes* mais utilizadas são *T. patula* L.,

*T. erecta* L. e *T. minuta* L., sendo que, entre essas, *T. patula* é a mais eficiente, podendo ser utilizada em sistema de rotação de culturas ou consorciação (FERREIRA et al., 2013). Além do efeito direto de *T. patula* sobre o nematoide, observou-se também que o extrato aquoso dessa planta reduziu em até 61,5% o número de juvenis de *M. incognita* no solo e 52,8% de ovos e 62,2% de galhas em raízes de tomateiro (FRANZENER et al., 2007). *Tagetes* spp. agem também como planta armadilha, em que o nematoide penetra a raiz, mas não consegue se desenvolver, reduzindo a infestação de nematoides como *M. incognita* e *M. javanica* (BELCHER; HUSSEY, 1977; HUANG, 1984; HUSSAIN et al., 2011).

O efeito antagonista de diferentes espécies de mucuna também é conhecido, por promover redução da população de diferentes nematoides, devido à produção de uma substância nematicida denominada L-Dopa (BARBOSA et al., 1999). Diversos trabalhos relatam a eficiência de espécies de mucuna sobre diferentes nematoides, como *Meloidogyne* spp. (WEAVER et al., 1998; RODRÍGUEZ-KÁBANA et al., 1992; FERRAZ et al., 2003; MIAMOTO et al., 2016), *P. brachyurus* (SHARMA et al., 1982; VEDOVETO et al., 2013), *H. glycines* (RODRIGUEZ-KÁBANA et al., 1992; WEAVER et al., 1998) e *R. reniformis* (GARDIANO et al., 2012.; GARDIANO et al., 2014). Entretanto, assim como as crotalárias, nem todas as espécies de mucuna são indicadas no manejo de nematoides, como observado por Machado et al. (2007), em que *M. pruriens* (L.) DC. aumentou a população de *P. brachyurus*.

O mesmo pode ser observado para *Cajanus cajan* (L) Mill, que mostrou potencial no controle de *M. javanica* (INOMOTO et al., 2008; ROSA et al., 2013; MIAMOTO et al., 2017) e *H. glycines* (VALLE et al., 1997), entretanto, é moderadamente suscetível a *P. brachyurus* (MACHADO et al., 2007) e suscetível a *R. reniformis* (GARDIANO et al., 2014).

### ***Macrotyloma axillare* cv. Java**

O gênero *Macrotyloma* pertence à família Fabaceae, com 25 espécies indígenas da África e Ásia. A espécie *M. axillare* (E. Mey.) Verdc. tem como centro de origem o continente africano, sendo uma planta herbácea, perene, com ramos cilíndricos, folhas trifolioladas, flores com 2 a 5 cm de comprimento, vagem de 3 a 5 cm de comprimento e sementes com 3 a 4 mm de comprimento, subovais, lateralmente achatadas, com cinco a nove sementes por vagem. É uma

planta adaptada à climas tropicais e subtropicais, com solos bem drenados, tendo alto grau de tolerância à seca (ALCÂNTARA; BUFARAH, 1983).

No ano de 2004, uma nova cultivar de *M. axillare* foi lançada no Brasil, sendo denominada java, obtida pelo cruzamento das cultivares Archer e Guatá (ABRASEM, 2006). É uma cultivar pouco exigente quanto à fertilidade do solo, com ciclo perene, sendo trepadeira volúvel, e apresenta boa persistência no consórcio com gramíneas. O crescimento da planta é rápido e é favorecido pela dispersão das sementes, que são arremessadas à longas distâncias quando as vagens amadurecem (ALCÂNTARA; USBERTI FILHO, 2005).

A cultivar java pode ser utilizada em programas que buscam a recuperação do solo ou revegetação em ambientes degradados, uma vez que ela possui efeito protetor do solo contra a erosão, devido à alta capacidade de cobertura do mesmo (SILVA et al., 2007). Recentemente, houve um relato de que esta cultivar apresenta potencial para o manejo de nematoides, visto que a planta foi atrativa a *M. javanica*, entretanto não permitiu que o mesmo completasse o ciclo de vida com eficiência, acarretando em fator de reprodução menor que um, sendo considerada planta resistente (MIAMOTO et al., 2016). No entanto, o modo de ação desta planta sobre o nematoide não foi elucidado no referido estudo.

## REFERÊNCIAS

ABAD, P.; FAVERY, B.; ROSSO, M. N.; CASTAGNONE-SERENO, P. Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. **Molecular Plant Pathology**, Medfort, v. 4, n. 4, p. 217-224, 2003.

ABRASEM - Associação Brasileira de Sementes e Mudás. Consolidando o Sistema Sementeiro junto ao Agronegócio Nacional. **Anuário 2006**. Pelotas, 86p. 2006.

ALCÂNTARA, P. B.; BUFARAH, G. **Plantas Forrageiras: gramíneas e leguminosas**. 2ed. São Paulo: Nobel, 1983. 150p.

ALCÂNTARA, P. B.; USBERTI FILHO, J. A. Pastagens. **Cultivar Bovinos**, Pelotas, v. 2, n. 17, p. 8-9. 2005.

ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. F. V.; HENNING, A. A.; GODOY, C. V.; COSTAMILAN, L. M.; MEYER, M. C. Doenças da Soja. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.) **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 569-588.

ALMEIDA-ENGLER J, GHEYSEN G. Nematode-induced endoreduplication in plant host cells: why and how? **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Quebec, v. 26, n. 1, p. 17-24, 2013.

ANSEMI, R. **Palha, rotação e adubos verdes integram manejo sustentável**. Campinas: Jornal Cana, 2009. 33p.

ANTES, V. A.; COMERLATO, A. P.; SCHUELTER, A. R.; CARNEIRO, R. M. D. G.; FURLANETTO, C. Native-plant hosts of *Meloidogyne* spp. from Western Paraná, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 55, n. 2, p. 213-219, 2012.

ASMUS, G. L. Ocorrência de nematoide fitoparasitos em algodoeiro no estado de Mato Grosso do Sul. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.28, n. 1, p.77-86. 2004.

ASMUS, G. L. Reação de genótipos de soja ao nematóide reniforme. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 69-71, 2008.

ASMUS, G. L.; INOMOTO, M. M. Manejo de nematoides. In:FREIRE, E. C. **Algodão no Cerrado do Brasil**. Editora ABRAPA, Brasília (DF), 2007. p. 551-580.

ASMUS, G. L.; ISHIMI, C. M. Flutuação populacional de *Rotylenchulus reniformis* em solo cultivado com algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 1, p. 51-57, 2009.

ASMUS, G. L.; RODRIGUES, E.; ISENBERG, K. Danos em soja e algodão associados ao nematóide reniforme (*Rotylenchulus reniformis*) em Mato Grosso do Sul. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 267, 2003.

ASMUS, G. L.; TOMAZZINI, M. D.; FERRAZ, L. C. Penetração de *Heterodera glycines* em raízes de soja resistente. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 251-253, 2001.

BAKKER, J.; GOMMERS, F. J.; NIEUWENHUIS, I.; WYNBERG, H. Photoactivation of the nematicidal compound alfa-terthienyl from roots marigolds (*Tagetes* species). A possible singlet oxygen role. **Journal of Biological Chemistry**, New York, v. 254, n. 6, p. 1841-1844, 1979.

BARBOSA, L. C. A.; BARCELOS, F. E.; DEMUNER, A. J.; SANTOS, M. A. Chemical constituents from *Mucuna aterrima* with activity against *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines*. **Nematropica**, Auburn, v. 29, n. 1, p. 81-88, 1999.

BELCHER, J. V.; HUSSEY, R. S. Influence of *Tagetes patula* and *Arachis hypogaeae* on *Meloidogyne incognita*. **Plant Disease Reporter**, Saint Paul, v. 61, n. 1, p. 525-528, 1977.

BESSI, R; SUJIMOTO, F. R.; INOMOTO, M. M. Seed treatment affects *Meloidogyne incognita* penetration, colonization and reproduction on cotton. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 6, p. 1428-1430, 2010.

BEZERRA, A. R. G.; SEDIYAMA, T.; BORÉM, A.; SOARES, M. M. Importância econômica. In: SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. (Org.). Soja: do plantio à colheita. Viçosa: Editora UFV, 2015.

BORTOLINI, G. L.; ARAUJO, D. V.; ZAVISLAK, F. D.; JUNIOR, J. R.; KRAUSE, W. Controle de *Pratylenchus brachyurus* via tratamento de semente de soja. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 9, n. 1, p. 818–830, 2013.

BRAZ, G. B. P.; OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J.; RAIMONDI, R. T.; RIBEIRO, L. M.; GEMELLI, A.; TAKANO, H. K. Weeds as alternative hosts for *Pratylenchus brachyurus*. **Summa Phytopathology**, Botucatu, v. 42, n. 3, p. 233-238, 2016.

BRIDA, A. L.; GABIA, A. A.; PEZZONI FILHO, J. C.; MORAES, D. A. C.; WILCKEN, S. R. S. Variabilidade espacial de *Meloidogyne javanica* em soja. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 42, n. 2, p. 175-179, 2016.

CARDOSO, M. R.; PUERARI, H. H.; RIBEIRO, N. R.; ALMEIDA, A. A.; LOPES, A. P. M.; DIAS-ARIEIRA, C. R. REAÇÃO DE *Crotalaria ochroleuca* A DIFERENTES RAÇAS DE *Heterodera glycines*. In: 33º Congresso Brasileiro de Nematologia - Nematologia do Litoral ao Sertão: Avanços e Desafios, 2016, Petrolina, PE. **Anais do 33º Congresso Brasileiro de Nematologia - Nematologia do Litoral ao Sertão: Avanços e Desafios**, 2016.

CARDOZO, R. B.; ARAÚJO, F. F. Multiplicação de *Bacillus subtilis* em vinhaça e viabilidade no controle da meloidoginose, em cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 12 p.1283–1288, 2011.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIRA, M. R. A.; MARTINS, I.; SOUZA, F. F.; PIRES, A. Q.; TIGANO, M. S. Ocorrência de *Meloidogyne* spp. e Fungos Nematófagos em Hortaliças no Distrito Federal, Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 32, n. 2, p. 135-141, 2008.

CARPENTIERI-PÍCOLO, V.; KIIH, T. A. M.; DIAS, W. P.; SOUZA, A. Desenvolvimento de *H. glycines* em cultivares resistentes e suscetível de soja. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 4, p. 485-488, 2005.

CASTAGNONE-SERENO, P.; DANCHIN, E. G. J.; PERFUS-BARBEOCH, L.; ABAD, P. Diversity and evolution of root-knot nematodes, genus *Meloidogyne*: new insights from the genomic era. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 51, n. 1, p. 203-220, 2013.

CASTILHO, P.; VOVLAS, N. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): **Diagnosis, Biology, Pathogenicity and Management**. Leiden: Brill, 2007. 529 p.

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

CHAVES, A.; MARANHÃO, S. R. V. L.; PEDROSA, E. M. R.; GUIMARÃES, L. M. P.; OLIVEIRA, M. K. R. S. Incidência de *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* sp. em Cana-de-açúcar

no Estado de Pernambuco, Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, n. 4, p. 278-280, 2009.

CHEN, S.; DICKINSON, D. W. Biological control of nematodes by fungal antagonists. In: CHEN, Z. X.; CHEN, S.Y.; DICKSON, D. W. (Eds). **Nematology advances and perspectives – nematode management and utilization**. vl. Beijing: CABI Publishing, 2004. p. 979-1039.

CHIAMOLERA, F. M.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; SOUTO, E. R.; BIELA, F.; CUNHA, T. P. L.; SANTANA, S. M.; PUERARI, H. H. Suscetibilidade de culturas de inverno a *Pratylenchus brachyurus* e atividade sobre a população do nematoide na cultura do milho. **Nematropica**, Auburn, v. 42, n. 1, p. 267-275, 2012.

CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 40, n. 1, p. 221–249, 2002.

COLEGATE, S. M.; GARDNER, D. R.; JOY, R. J.; BETZ, J. M.; PANTER, K.E. Dehydropyrrolizidine alkaloids, including monoesters with an unusual esterifying acid, from cultivated *Crotalaria juncea* (sunn hemp cv. 'Tropic Sun'). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Munique, v.60, n. 14, p. 3541-3550, 2012.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira. grãos, v. 4 Safra 2016/17, n.9, Nono levantamento, Brasília, p. 1-161, junho de 2017. Disponível em: [HTTP://www.conab.gov.br](http://www.conab.gov.br). Acesso em: 14 dez. 2017.

COSTA, M. J. N. Toxicidade de filtrados fúngicos a *Meloidogyne incognita*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v, 26, n. 4, p. 749-755, 2001.

CURTO, G.; DALLAVALLE, E.; SANTI, R.; CASADEI, N.; D'AVINO, L.; LAZZERI, L. The potential of *Crotalaria juncea* L. as a summer green manure crop in comparison to Brassicaceae catch crops for management of *Meloidogyne incognita* in the Mediterranean area. **European Journal of Plant Pathology**, Missouri, v. 142, n. 1, p. 829-841, 2015.

DALLAMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; FERRAZ, S.; NEVES, W. S.; LOPES, E. A.; COUTINHO, M. M. Efeito da Concentração de Clamidósporos de *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* no Controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 32, n. 4, p. 327-332, 2008.

DAVIES, K. G.; FLYNN, C. A.; AND KERRY, B. R. **The life cycle and pathology of the root-knot nematode parasite *Pasteuria penetrans***. Brighton Crop Protection Conference, London: British Crop Protection Council, 1988. P. 1221-1226.

DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.; DIAS, W. P.; RAMOS JUNIOR, E. U.; BALBINOT JUNIOR, A. A. Práticas culturais na entressafra da soja para o controle de *Pratylenchus brachyurus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 10, p. 1720-1728, 2016.

DEBPRASAD, R.; PRASAD, D.; SINGH, R. P.; RAY, D. Chemical examination and antinemic activity of marigold (*Tagetes erecta* L.) flower. **Annals of Plant Protection Sciences**, New Delhi, v. 8, n. 2, p. 212-217, 2000.

DEVRAJAN, K.; SEENIVASAN, N. Biochemical changes in banana roots due to *Meloidogyne incognita* infected with *Paecilomyces lilacinus*. **Current Nematology**, Bigleswade, v.13, n. 1, p.1-5. 2002.

DHANDAYDHAM, M.; CHARLES, L.; ZHU, H.; STARR, J.L.; HUGUET, T.; COOK, D. R.; PROSPERI, J. M.; OPPERMAN, C. Characterization of Root-Knot Nematode Resistance in *Medicago truncatula*. **Journal of Nematology**, Florida, v. 40, n. 1, p. 46-54, 2008.

DIAS, W. P.; GARCIA, A.; SILVA, J. F. V.; CARNEIRO, G. E. S. **Nematoides em soja: Identificação e Controle**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 8p. (Circular Técnica 76).

DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V.; GARCIA, A.; CARNEIRO, G. E. S. Nematóides de importância para a soja no Brasil. In: **Boletim de Pesquisa de Soja 2007**. Rondonópolis: Fundação MT, n. 11, p.173-184, 2007.

DIAS-ARIEIRA C. R.; CHIAMOLERA, F. M. Cresce a incidência de nematoides em milho e soja. **Revista Campo e Negócio**, Uberlândia, p.18-20, 2011

DIAS-ARIEIRA, C. R.; FURLANETTO, C.; SANTANA, S. M.; BARIZÃO, D. A. O.; RIBEIRO, R. C. F.; FORMENTINI, H. M. Fitonematoides associados a frutíferas na região Noroeste do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 4, p. 1064-1071, 2010.

DUBREUIL, G.; MAGLIANO, M.; DELEURY, E.; ABAD, P.; ROSSO, M. N. Transcriptome analysis of root-knot nematode functions induced in the early stages of parasitism. **New Phytologist**, Londres, v. 176, n. 2, p.426–36, 2007.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). **Sistemas de Produção: Tecnologias de Produção de Soja na Região Central do Brasil 2005**. Londrina: Embrapa Soja; Embrapa Cerrados; Embrapa Agropecuária Oeste; Fundação Meridional, 2005. 239p.

EMBRAPA SOJA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema de Produção 14: Tecnologia de Produção de Soja – Região Central do Brasil 2011**. Londrina: EMBRAPA SOJA, 2010. 255p.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologias de produção de soja Região Central do Brasil 2012 e 2013**. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Londrina-PR: Embrapa Soja, 2011, 261 p. (Sistemas de Produção, 15).

FALETI, M. S.; SIGNORI, G.; BARBIERI, M., GIROTO, M.; FELIPE, A. L. S.; JUNIOR, C. E. I.; SILVA, D P.; LIMA, F. C. C. Controle de nematoide utilizando adubos verdes. **Revista Científica Eletrônica de Agrinomia**, Garça, v. 10, n. 20, p. 1-8, 2011.

- FANCELLI, A. L. Pesquisas certificam espécies para rotação de culturas. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 0, n. 9, p. 17-20, 2009.
- FERNANDES, H. R.; VIEIRA, B. R.; FUGA, C. A. G.; LOPES, E. A. *Pochonia chlamydosporia* e *Bacillus subtilis* no controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em mudas de tomateiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 194-200, Jan./Feb. 2014.
- FERRAZ, L. C. C. B. As meloidogynoses da soja: passado, presente e futuro. In: SILVA, J. F. V. (Ed.). **Relações parasito-hospedeiro nas meloidogynoses da soja**. Londrina: EMBRAPA Soja, 2001. p. 15-38.
- FERRAZ, L. C. C. B. O nematóide *Pratylenchus brachyurus* e a soja sob plantio direto. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, v. 1, n. 96, p. 23-32, 2006.
- FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; FERREIRA, P. A.; AMORA, D. X.; FREITAS, C. F.; CAMPOS, A. V. S. Efeito do cultivo de duas espécies de *Mucuna* sobre a população de *Meloidogyne exigua*, *M. incognita* e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 236-237, 2003.
- FERREIRA, I. C. M.; SILVA, G. S.; NASCIMENTO, F. S. Efeito de extratos aquosos de espécies de Asteraceae sobre *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 39, n. 1, p. 40-44, 2013.
- FRANZENER, G.; MARTINEZ-FRANZENER, A. S.; STANGARLIN, J. R.; FURLANETTO, C.; SCHWANESTRADA, K. R. F. Proteção de tomateiro a *Meloidogyne incognita* pelo extrato aquoso de *Tagetes patula*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 27-36, 2007.
- FREITAS, L. G. **Introdução à nematologia**. Viçosa: UFV, 2001, 84 p.
- FREITAS, M. A.; PEDROSA, E. M. R.; MARIANO, R. L. R.; MARANHÃO, S. R. V. L. Screening *Trichoderma* spp. as potential agents for biocontrol of *Meloidogyne incognita* in sugarcane. **Nematropica**, Florida, v. 42, n. 1, p. 115-122, 2012.
- GARDIANO, C. G.; KRZYZANOWSKI, A. A.; SAAB, O. J.A. Hospedabilidade de plantas melhoradoras de solo à *Rotylenchulus reniformis* Linford e Oliveira (1940). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 79, n. 2, p. 313-317, 2012.
- GARDIANO, C. G.; KRZYZANOWSKI, A. A.; SAAB, O. J. G. A. Eficiência de espécies de adubos verdes sobre a população do nematoide reniforme. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 719-726, 2014.
- GOULART, A. M. C. **Aspectos gerais sobre nematóides-das-lesões-radiculares (gênero *Pratylenchus*)**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. 27p.
- GRIGOLLI, J. F. F.; ASMUS, G. L. Manejo de nematoides na cultura da soja. **Tecnologia e produção: Soja 2013/2014**, Mato Grosso, v. 1, n. 9, p. 194-203, 2013.

HAEGEMAN, A.; MANTELIN, S.; JONES, J. T.; GHEYSEN, G. Functional roles effectors of plant-parasitic nematodes. **Gene**, Amsterdam, v. 492, n. 1, p. 19-31, 2012.

HALLMANN, J.; DAVIES, K. G.; SIKORA, R. A. Biological control using microbial pathogens, endophytes and antagonists. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds). **Root-knot nematodes**. Wallingford: CABI Publishing, 2009. p. 380-411.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, Medford, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.

HENNING, A. A.; ALMEIDA, A. M. R.; GODOY, C. V.; SEIXAS C. D. S.; YORINORI, J. T.; COSTAMILAN L. M.; FERREIRA, L. P.; MEYER, M. C.; SOARES, R. M.; DIAS, W. P. **Manual de identificação de doenças de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 72 p. (Documentos, 256).

HIGAKI, A. W.; ARAUJO, F. F. (2012). *Bacillus subtilis* e abamectina no controle de nematoides e alterações fisiológicas em algodoeiro cultivado em solos naturalmente infestados. **Nematropica**, Auburn, v. 42, n. 1, p. 295-303, 2012.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. **Evolução e Perspectivas de Desempenho Econômico Associadas com a Produção de Soja nos Contextos Mundial e Brasileiro**. (Embrapa Soja, Documentos, 319). Londrina: EMBRAPA, 2011. 69p.

HOMIAK, J. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; COUTO, E. A. A.; KATH, J.; ABE, V. H. F. Seed treatments associated with resistance inducers for management of *Pratylenchus brachyurus* in soybean. **Phytoparasitica**, v. 45, n. 1, p. 243-250, 2017.

HUANG, S. P. Cropping Effects of Marigolds, Corn, and Okra on Population Levels of *Meloidogyne javanica* and on Carrot Yields. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 16, n. 4, p. 396-398, 1984.

HUSSAIN, M. A.; MUKHTAR, T.; KAYANI, M. Z. Efficacy evaluation of *Azadirachta indica*, *Calotropis procera*, *Datura stramonium* and *Tagetes erecta* against Root-knot nematodes *Meloidogyne incognita*. **Pakistan Journal of Botany**, Special Issue, v. 43, n. 1, p. 197-204, 2011.

INOMOTO, M. M. Avaliação da resistência de 12 híbridos de milho a *Pratylenchus brachyurus*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 36, n. 5, p. 308-312, 2011.

INOMOTO, M. M.; ANTEDOMÊNICO, S. R.; SANTOS, V. P.; SILVA, R. A.; ALMEIDA, G. C. Greenhouse evaluation of the potential of sorghum, pearl millet and crotalaria in the management of *Meloidogyne javanica*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, v. 2, p. 125-129, 2008.

INOMOTO, M. M.; ASMUS, G. L. Controle de nematóides e resistência, rotação e nematicidas. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 1, n. 6, p. 47-50, 2006.

INOMOTO, M. M.; MOTTA, L. C. C.; BELUTI, B.; MACHADO, A. C. Z. Reação de seis adubos verdes a *Meloidogyne javanica* e *Pratylenchus brachyurus*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 30, n. 1, p. 39–44, 2006.

JUHÁSZ, A. C. P.; PÁDUA, G. P.; WRUCK, D. S. M.; FAVORETO, L.; RIBEIRO, N. R. Desafios fitossanitários para a produção de soja. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 34, n. 276, p. 66-75, 2013

KANEKO, F. H.; ARF, M. V.; BEM, E. A. D.; BUZETTI, S.; LEAL, A. J. F.; GITTI, D. C. Doses de gesso e desenvolvimento da cultura da soja em Latossolo Vermelho argiloso em região de cerrado. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 8, n. 29, p. 253-259, 2015.

KATH, J.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERREIRA, J. C. A.; HOMIAK, J. A.; SILVA, C. R.; CARDOSO, C. R. Control of *Pratylenchus brachyurus* in soybean with *Trichoderma* spp. and resistance inducers. **Journal of Phytopathology**, Medford, v. 165, n.11-12, p. 791–799, 2017.

KHAN, M. R., KHAN, S. M.; MOHIDE, F. Rootknot nematode problem of some winter ornamental plants and its biomanagement. **Journal of Nematology**, Florida, v. 37, n. 2, p. 198-206, 2005.

KOKALIS-BURELLE, N. *Pasteuria penetrans* for Control of *Meloidogyne incognita* on Tomato and Cucumber, and *M. arenaria* on Snapdragon. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 47, n. 3, p. 207-2013, 2015.

KUBO, R. K.; MACHADO, A. C. Z.; OLIVEIRA, C. M. G. Efeito do tratamento de sementes no controle de *Rotylenchulus reniformis* em dois cultivares de algodão. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v. 59, n. 1-2, p. 239-245, 2012.

LIAN L. H.; TIAN, B. Y.; XIONG, M. Z.; ZHU, M. Z. XU, J.; ZHANG, K. Q. Proteases from *Bacillus*: A new insight into the mechanism of action for rhizobacterial suppression of nematode populations. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 45, n. 3, p. 262-269, 2007.

LIU, C.; TIMPER, P.; JI, P.; MEKETE, T.; JOSEPH, S. Influence of Root Exudates and Soil on Attachment of *Pasteuria penetrans* to *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 49, n. 3, p. 304-310, 2017

LOPES, E. A.; FERRAZ, S.; FERREIRA, P. A.; FREITAS, L. G.; DHINGRA, O. D.; GARDIANO, C. G.; CARVALHO, S. L. Potencial de isolados de fungos nematófagos no controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 31, n. 1, p. 78-84. 2007.

LUDWIG, J.; MOURA, A. B.; GOMES, C. B. Potencial da microbiolização de sementes de arroz com rizobactérias para o biocontrole do nematoide das galhas. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, n. 3, p. 1-5, 2013.

- MACHADO, A. C. Z.; MOTTA, L. C. C.; SIQUEIRA, K. M. S.; FERRAZ, L. C. C. B.; INOMOTO, M. M. Host status of green manures for two isolates of *Pratylenchus brachyurus* in Brazil. **Nematology**, v. 9, n. 6, p. 799-805, 2007.
- MACHADO, V.; BERLIT, D. L.; MATSUMURA, A. T. S.; SANTIN, R. C. M.; GUIMARÃES, A.; SILVA, M. E.; FIUZA, L. M. Bactérias como agentes de controle biológico de fitonematóides. **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 2, p. 165-182, 2012.
- MAISTRELLO, L.; VACCARI, G.; SASANELLI, N. Effect of chestnut tannins on the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Helminthologia**, Eslováquia, v. 47, n. 1, p. 48-57, 2010.
- MANZANILLA-LÓPEZ R. H.; ESTEVES, I.; FINETTI-SIALER, M. M.; HIRSCH, P. R.; WARD, E.; DEVONSHIRE, J.; HIDALGO-DÍAZ, L. *Pochonia chlamydosporia*: advances and challenges to improve its performance as a biological control agent of sedentary endo-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, Florida, v. 45, n. 1, p.1-7, 2013.
- MANZOTTE, U.; DIAS, W. P., MENDES, M. L.; SILVA, J. F. V.; GOMES, J. Reação de híbridos de milho a *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 26 n.1, p. 105-108, 2002.
- MARIANO, F. M. Precipitações pluviiais e a cultura da soja em Goiás. **Mercator - Revista de geografia da UFC**, Ceará, v. 9, n. 1, p. 121-134, 2010.
- MARLA, S. R.; HUETTEL, R. N.; MOSJIDIS, J. Evaluation of *Crotalaria juncea* populations as hosts and antagonistic crops to manage *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis*. **Nematropica**, Auburn, v. 38, n. 2, p. 155-161, 2008.
- MIAMOTO, A.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; CARDOSO, M. R.; PUERARI, H. H. Penetration and Reproduction of *Meloidogyne javanica* on Leguminous Crops. **Journal of Phytopathology**, Medford, v. 164, n. 11-12, p. 890-895, 2016.
- MUKHTAR, T.; PERVAZ, I. *In vitro* evaluation of ovicidal and larvicidal effects of culture filtrate of *Verticillium chlamydosporium* against *Meloidogyne javanica*. **International Journal of Agriculture and Biology**, Faisalabad, v. 5, n. 4, p. 576-579, 2003.
- NORDBRING-HERTZ, B.; JANSSON, H. B.; TUNLID, A. Nematophagous fungi. In: Encyclopedia of Life Sciences. **Macmillan Publishers**, Basingstoke, 2002, 10p.
- NYCZEPIR, A. P.; THOMAS, S. H. Current and Future Management Strategies in Intensive Crop Production Systems. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Ed.). **Root-knot Nematodes**. UK: CAB International, 2009. p. 412-435.
- OLIVEIRA, A. S.; CAMPOS, V. P.; SILVA, J. R. C.; OLIVEIRA, M. S. & SOUZA, R. M. Efeito de Bactérias Endofíticas sobre *Meloidogyne javanica* e Métodos de Inoculação em Tomateiro. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, n. 1, p. 45-53, 2009.

OLMEDO-MONFIL, V.; CASAS-FLORES, S. Molecular mechanisms of biocontrol in *Trichoderma* spp. and their applications in agriculture. In: GUPTA, V.; SCHMOLL, M.; HERRERA-ESTRELLA, A.; UPADHYAY, R.; DRUZHININA, I.; TUOHY, M. (Eds). **Biotechnology and Biology of *Trichoderma***. Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 429-453.

PANKAJ, K.; BANSAL, R. K.; NANDAL, S. N. Biocontrol of *Meloidogyne graminicola* using rhizobacteria on rice seedlings. **Nematologia Mediterranea**, v.38, p.115-119, 2010.

PINHEIRO, J. B.; AMARO, G. B.; PEREIRA, R. B. **Nematoides em pimentas do gênero *Capsicum***. Embrapa, Brasília, v. 1, n. 104, p. 1-9, 2012 (Circular Técnica 104).

RIBEIRO, L. M.; CAMPOS, H. D.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; NEVES, D. L.; RIBEIRO, G. C. Effect of soybean seed treatment on the population dynamics of *Pratylenchus brachyurus* under water stress conditions. **Bioscience Journal**, Umuarama, v. 30, n. 1, p. 616–622, 2014.

RIBEIRO, L. M.; CAMPOS, H. D.; RIBEIRO, G. C.; NEVES, D. L.; DIAS ARIEIRA, C. R. Efeito do tratamento de sementes de algodão na dinâmica populacional de *Pratylenchus brachyurus* em condições de estresse hídrico. **Nematropica**, Gainesville, v. 42, n. 1, p. 84- 90, 2012.

RIBEIRO, N. R. **Avaliação de espécies vegetais e cultivares de soja para a composição de esquemas de rotação ou sucessão de culturas para o manejo de *Pratylenchus brachyurus***. 2009. 56p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Londrina, 2009.

RIBEIRO, N. R.; DIAS, W. P.; SANTOS, J. M. **Distribuição de fitonematoides em regiões produtoras de soja do estado de Mato Grosso**. Boletim de Pesquisa de Soja 2010, Fundação Mato Grosso, p. 289-296, 2010.

RIBEIRO, N. R.; SILVA, J. F. V.; MEIRELLES, W. F.; CRAVEIRO, A. G.; PARENTONI, S. N.; SANTOS, F. G. Avaliação da resistência de genótipos de milho, sorgo e milheto a *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* raça 3. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 3, p. 102-103, 2002.

RITZINGER, C. H. S. P.; COSTA, D. C. **Nematóide das lesões (*Pratylenchus* spp.) em abacaxizeiro**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 2p. (Embrapa Mandioca e Fruticultura. Abacaxi em Foco, 31).

ROBINSON, A. F.; AKRIDGE, R.; BRADFORD, J. M.; COOK, C. G.; GAZAWAY, W. S.; KIRKPATRICK, T. L.; LAWRENCE, G. W.; LEE, G.; MCGAWLEY, E. C.; OVERSTREET, C.; PADGETT, B.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; WESTPHAL, A.; YOUNG, L. D. Vertical Distribution of *Rotylenchulus reniformis* in Cotton Fields. **Journal of Nematology**, Florida, v. 37, n. 3, p. 265–271, 2005.

- RODRIGUEZ-KABANA, R.; PINOCHET, J.; ROBERTSON, D. G.; WELLS, L. Croprotection studies with velvetbean (*Mucuna deeringiana*) for the management of *Meloidogyne* spp. Supplementto **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 24, n. 4, p. 662-668, 1992.
- ROESE, A. D.; ROMANI, R. D.; FURLANETTO, C.; STANGARLIN, J. R.; PORTZ, R. L. Levantamentos de doenças na cultura da soja *Glycine max* (L.) Merrill, em Municípios da região Oeste do Paraná. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 1, p. 1293-1297, 2001.
- ROSA, J. M. O.; WESTERICH, J. N.; WILCKEN, S. R. S. Reprodução de *Meloidogyne javanica* em olerícolas e em plantas utilizadas na adubação verde. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, n. 2, p. 133-141, 2013.
- SANTANA, S. M., C. R. DIAS-ARIEIRA, F. BIELA, T. P. L. CUNHA, F. M. CHIAMOLERA, M. ROLDI AND V. H. F. ABE. Antagonistic plants in the management of *Meloidogyne incognita*, in sandy soil of vegetables growing areas. **Nematropica**, Auburn, v. 42, n. 2, p. 287-294, 2012.
- SANTOS, F. C.; NOVAIS, R. F.; NEVES, J. C. L.; FOLONI, J. M.; ALBUQUERQUE FILHO, R.; KER, J. C. Produtividade e aspectos nutricionais de plantas de soja cultivadas em solos de cerrado com diferentes texturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.32, n. 1, p. 2015-2025, 2008.
- SHARMA, R. D.; PEREIRA, J.; RESCK, D.V.S. **Eficiência de adubos verdes no controle de nematóides associados à soja nos cerrados**. Planaltina: Embrapa-CPAC, v. 13, n. 13, 1982. 30p.
- SHARON, E.; CHET, I.; SPIEGEL, Y. Biological control of plant-parasitic nematodes: *Trichoderma* as a biological control agent. **Biological Control**, Palo Alto, v. 11, n. 1, p. 183-201, 2011.
- SILVA, A. H.; ALVES, D. S.; SILVEIRA, H. R. O.; ALVARENGA, I. C. A.; SOUZA, M. F.; FERNANDES, L. F. Aplicação de corretivos e fertilizantes para recuperação de áreas degradadas utilizando *Macrotyloma axillare* como cobertura vegetal no norte de Minas Gerais. **Caminhos de Geografia**, Uberlândia v. 8, n. 22, p. 105 – 115, 2007.
- SILVA, B. D.; ULHOA, C. J.; BATISTA, K. A.; YAMASHITA, F.; FERNANDES, K. F. Potential fungal inhibition by immobilized hydrolytic enzymes from *Trichoderma asperellum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Munique, v. 59, n. 15, p. 8148-8154, 2011.
- SILVA, J. G. P.; FURLANETTO, C.; ALMEIDA, M. R. A.; ROCHA, D. B.; MATTOS, V. S.; CORREA, V. R.; CARNEIRO, R. M. D. G. Occurrence of *Meloidogyne* spp. in Cerrado Vegetations and Reaction of Native Plants to *Meloidogyne javanica*. **Journal of Phytopatology**, Madford, v. 162, n. 7-8, 2014, p. 449-455, 2014.

SIYAKUMAR, C. Y.; SESHADRJ, A. R. Life history of the reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis* (Linford and Oliveira, 1940). **Indian Journal Nematology**, New Dhali, v. 1, n. 1, p. 7-20, 1971.

SMALING, E. M. A.; ROSCOE R. C.; LESSCHEN, J. P.; BOUWMANE, A. F.; COMUNELLO, E. From forest to waste: Assessment of the Brazilian soybean chain, using nitrogen as a marker. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Medford, v. 128, n. 1, p. 185–197, 2008.

STARR, J. L.; MERCER, C. F. Development of Resistant Varieties. In: PERRY R. N.; MOENS M.; STARR J. L (Ed.). **Root-knot Nematodes**. UK: CAB International, 2009. p. 326-335.

TIHOHOD, D. **Nematologia Agricola Aplicada**. Jaboticabal: Funep, 1993. 372p

USDA - UNITED STATE DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Economic research service. 2017. Disponível em: <http://www.ers.usda.gov>. Acesso em: 14 dez. 2017.

VALLE, L. A. C.; FERRAZ, S.; TEIXEIRA, D. A. Estímulo à eclosão de juvenis, penetração e desenvolvimento de *Heterodera glycines* em raízes de mucuna preta (*Mucuna aterrima*) e feijão guandu (*Cajanus cajan*). **Nematologia Brasileira**, Jaboticabal, v. 21, n. 1, p. 67-83, 1997.

VEDOVETO, M. V. V.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; RODRIGUES, D. B.; ARIEIRA, J. O.; ROLDI, M.; SEVERINO, J. J. Green manure in the management of *Pratylenchus brachyurus* in soybean. **Nematopica**, Auburn, p. 43, n. 2, p. 226-232, 2013.

VITTI, A. J.; RESENDE NETO, U. R.; ARAÚJO, F. G.; SANTOS, L. C.; BARBOSA, K. A. G.; ROCHA, M. R. Effect of soybean seed treatment with abamectin and thiabendazole on *Heterodera glycines*. **Nematopica**, Auburn, v. 44, n. 1, p. 74–80, 2014.

WANG, K. H.; SIPES, B. S.; SCHMITT, D. P. *Crotalaria* as a cover crop for nematode management. **Nematopica**, Auburn, v. 32, n. 1, p. 35–57, 2002.

WARNKE, S. A.; CHEN, S.; WYSE, D. L.; JOHNSON, G. A.; PORTER, P. M. Effect of rotation crops on hatch, viability and development of *Heterodera glycines*. **Nematology**, Leiden, v. 10, n. 6, p. 869-882, 2008.

WEAVER, D. B.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R.; GARDEN, E.L. Velvetbean and Bahiagrass as Rotation Crops for Management of *Meloidogyne* sp. and *Heterodera glycines* in Soybean. **Journal of Nematology**, Florida, v. 30, n. 4, p. 563-568, 1998.

WILLIAMS, A.B.; STIRLING, G. R.; HAYWARD, A. C.; PERRY, J. Properties and attempted culture of *Pasteuria penetrans*, a bacterial parasite of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*). **Journal of Applied Bacteriology**, Medford, v. 67, n. 2, p. 145-156, 1989.

YU, Z.; XIONG, J.; ZHOU, Q.; LUO, H.; XIA, L.; SUN, M.; LI, L.; YU, Z. The diverse nematicidal properties and biocontrol efficacy of *Bacillus thuringiensis* Cry6A against the root-

knot nematode *Meloidogyne hapla*. **Journal of Invertebrate Pathology**, Palo Alto, v. 125, n. 1, p. 73-80, 2015.

ZHANG, S.; GAN, Y.; XU, B. Biocontrol potential of a native species of *Trichoderma longibrachiatum* against *Meloidogyne incognita*. **Applied Soil Ecology**, Firenze, v. 94, n. 1, p. 21- 29, 2015.

ZHENG, Z.; ZHENG, J.; ZHANG, Z.; PENG, D.; SUN, M. Nematicidal spore-forming Bacilli share similar virulence factors and mechanisms. **Scientific Reports**, Shanghai, v. 6, n. 1, p. 1-9, 2016.

## **CAPÍTULO 1**

### **Antagonistic Effects of Java against Plant Parasitic Nematodes**

Artigo publicado em 2018 pela revista Journal of Agricultural Science

MIAMOTO, A.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; PUERARI, H. H.; MIORANZA, T. M.; PEREIRA, C. B. Java susceptibility to three nematode species. Journal of Agricultural Science, v. 10, n. 2, p. 289-299, 2018. DOI:10.5539/jas.v10n2p289

## Antagonistic Effects of Java against Plant Parasitic Nematodes

### ABSTRACT

One of the main phytonematode control alternatives is the use of antagonistic plants in crop rotation or succession systems. Although java legume shows antagonist potential to control *Meloidogyne javanica*, its reaction to other nematodes was not investigated so far. Thus, the aim of the current study is to assess the penetration and reproduction factor (RF) of *M. incognita*, *Rotylenchulus reniformis* and *Pratylenchus brachyurus* in java, using soybean as control. Plants individually inoculated with 1000 specimens from each nematode were assessed 5, 10, 15, 20, 25 and 30 days after inoculation (DAI) for nematode penetration and development. The RF was assessed under two inoculum levels of each nematode (1000 and 700 specimens) 60 days after inoculation, for *M. incognita* and *R. reniformis*; and 80 days after inoculation, for *P. brachyurus*. *M. incognita* and *R. reniformis* showed lower penetration and reproduction in java (RF < 1), whereas *P. brachyurus* showed higher penetration and RF > 1. Thus, the java legume can be considered resistant to *M. incognita* and *R. reniformis*, as well as susceptible to *P. brachyurus*.

**Palavras-chave:** *Macrotylloma axilare*. *Meloidogyne incognita*. *Pratylenchus brachyurus*. *Rotylenchulus reniformis*. Antagonism.

## Efeitos Antagonistas de Java sobre Nematoides Parasitas de Planta

### RESUMO

Uma das principais alternativas para o controle de fitonematoides é a utilização de plantas antagonistas em sistema de rotação ou sucessão de culturas. A leguminosa java apesar de apresentar potencial antagonista para o controle de *Meloidogyne javanica*, não foi estudada quanto à reação a outros nematoides. Assim, objetivou-se avaliar a penetração e o fator de reprodução (FR) de java a *Pratylenchus brachyurus*, *M. incognita* e *Rotylenchulus reniformis*, utilizando soja como testemunha. Plantas inoculadas com 1000 espécimes de cada nematoide separadamente foram avaliadas aos 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias após a inoculação (DAI) quanto à penetração e o desenvolvimento dos nematoides. Após 60 dias para *M. incognita* e *R. reniformis*, e 80 dias para *P. brachyurus*, foi avaliado o FR sob dois níveis de inóculo de cada nematoide, sendo estes com 1000 e 700 espécimes. Observou-se menor penetração de *M. incognita* e *R. reniformis* em java, refletindo em  $FR < 1$ . Para *P. brachyurus*, a penetração foi elevada e o  $FR > 1$ . Sendo assim, a leguminosa java pode ser considerada resistente a *M. incognita* e *R. reniformis* e suscetível a *P. brachyurus*.

**Keywords:** *Macrotyloma axilare*. *Meloidogyne incognita*. *Pratylenchus brachyurus*. *Rotylenchulus reniformis*. Antagonista.

## INTRODUÇÃO

The cultivation of antagonistic plants through crop rotation or succession in order to control nematodes is cited as one of the most efficient practices, since it presents several positive results (PUDASAINI et al., 2006; OKA, 2010; SANTANA et al., 2012a). Antagonist plants can be defined as those holding substances able to inhibit or affect the action of another living organism (CHITWOOD, 2002). Root exudates produced by these plants may have an allelopathic or even nematicidal effect; they also present mechanisms able to inhibit nematode development by interfering in their feeding process or interrupting their life cycle (MARLA et al., 2008; NYCZEPIR; THOMAS, 2009; ANDRADE et al., 2010).

One of the main nematode control issues lies on the inadequate crop management, which worsens the problems they cause, specially in soybean crops (*Glycine max* (L.) Merrill) because of mixed populations found in cultivated areas (GUZMÁN, 2011), and in Brazil the most common species are *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev and Sch. Stekhoven, *Heterodera glycines* (Ichinohe), and *Rotylenchulus reniformis* (Linford & Oliveira).

Some legumes may be used to control these nematode species and can act in different ways to control these parasites, including production of secondary metabolites with nematicidal effect in their roots and shoots. As example, there is the monocrotaline, which is a pyrrolizidine alkaloid (COLEGATE et al., 2012), produced by *Crotalaria* spp., able to cause egg and juvenile mortality or to change nematode reproduction (WANG et al., 2002; MARLA et al., 2008; LEANDRO; ASMUS, 2015) and L-Dopa produced by mucuna (*Mucuna* spp. and *Stizolobium* spp.), which reduces the final nematode populations, increases mortality, and decreases female *Meloidogyne* spp. formation (BARBOSA et al., 1999).

In addition, plants work as traps, since they attract juvenile nematodes and compromise their development after penetration (CURTO et al., 2015; MIAMOTO et al., 2016). Antagonist plants may also be resistant to a particular pathogen, thus generating an incompatible reaction, called hypersensitivity reaction (HR), in which the programmed death of infected plant tissues happens as natural defense to pathogen are obligate parasites that feed on cellular compounds (GABRIEL; ROLFE, 1990; WILLIAMSON; KUMAR, 2006; MUR et al., 2008; MELILLO et al., 2014).

Some legume species such as *Macrotyloma axillare* (E. Mey.) Verdc. cv. Java—or simply java—remain poorly studied. The aforementioned species, which was introduced in Brazil in 2004 (ABRASEM, 2006), is native to Indonesia and derives from the crossing between two *M. axillare* cultivars, namely: Archer and Guatá. It is a forage legume of perennial cycle, and does not demand high soil fertility in order to develop (PAIVA et al., 2008). According to Miamoto et al. (2016), java plants may show antagonist potential, since *M. javanica* penetration per root gram was high, although the RF (reproduction factor) was low. In other words, this plant is highly attractive to *M. javanica*, sometimes even more attractive than soybean plants; however, it does not allow the nematode to complete its life cycle.

Thus, given the potential of java plants to control *M. javanica*, and due to the scarcity of studies focused on applying it in the management of other nematodes composing mixed populations in soybean crops, the aim of the current study was to assess *M. incognita*, *R. reniformis* and *P. brachyurus* penetration and reproduction in java plants.

## MATERIAL AND METHODS

The current experiment followed a completely randomized design and was conducted in a greenhouse at the State University of Maringá, located at latitude 23°47'28.4" S, longitude 53°15'24.0" W, and altitude 379 m. Seedlings from java and soybean cultivar CD 206 (control) were germinated in polystyrene trays containing Bioplant® commercial substrate in order to assess nematode penetration in the experiment conducted with *M. incognita*. Similarly, seedlings from cultivar Pintado were used to assess nematode penetration in the experiment conducted with *R. reniformis* and *P. brachyurus*. Fifteen (15) days after germination, the aforementioned seedlings were transplanted into pots containing 700 mL soil (typical Dystrophic Red Latosol) sterilized through autoclaving at 120 °C for 2 hours.

Two days after transplantation, they were inoculated with an initial *M. incognita* population (IP) comprising 700 eggs and eventual second-stage juveniles (J2), or with 700 *R. reniformis* or *P. brachyurus* specimens, in four holes opened in the soil surrounding each plant. Pure *M. incognita*, *R. reniformis* and *P. brachyurus* populations were previously multiplied in tomato (cultivar Santa Clara), soybean (cultivar Pintado) and maize plants (cultivar Al Bandeirantes), respectively. They were extracted from the root system, according to the

methodology by Hussey and Barker (1973), adapted by Boneti and Ferraz (1981) to be applied to *M. incognita* and *R. reniformis*, as well as by Coolen and D'Herde (1972) to *P. brachyurus*.

Four plants from each treatment were collected every five days, from the 5th to the 30th day after inoculation (DAI), for evaluation purposes. The root system of these plants was carefully separated from the shoot, washed and deposited on paper towel to remove the water excess. Next, the fresh root mass was set and the roots were, subsequently, stained with acid fuchsin, according to the method described by Byrd Junior et al. (1983), for further evaluation.

Temporary slides containing root fragments were mounted to assess the entire root volume. *Meloidogyne incognita* development stages J2, J3, J4 (second-, third- and fourth-stage juveniles, respectively) and adult females; *R. reniformis* immature and adult females; as well as the total number of *P. brachyurus* nematodes penetrating the roots, were analyzed. The analyses were performed in a light microscope, at 100x magnification.

In addition to nematode penetration, java susceptibility to nematodes was tested at two inoculum levels. The same procedure adopted for seedling production, as well as the same cultivars, were applied to each nematode. Seedlings were transplanted to pots containing 700 mL autoclaved soil, 15 days after germination, as it was previously described. Two days after transplantation, java and soybean plants were inoculated with 700 or 1000 *M. incognita* eggs and occasional J2, or with 700 or 1000 *R. reniformis* or *P. brachyurus* specimens as previously described; the experiment adopted seven repetitions for each nematode species and for each inoculum level.

Assessments were conducted 60 (*M. incognita* and *R. reniformis*) and 80 days after inoculation (*P. brachyurus*). Plants were collected and their shoot was discarded. The root system of each plant was collected, carefully washed, and placed on absorbent paper to remove the water excess. Roots were weighed and subjected to the extraction processes mentioned above. Next, the total number of each nematode in the roots was assessed; such number was divided by the root mass in order to find nematodes/root gram. In addition, the reproductive factor (RF) was calculated;  $RF = \text{Final population} / \text{Initial population}$  (OOSTENBRINK, 1966). Furthermore, 100 cm<sup>3</sup> soil samples were collected and subjected to *R. reniformis* and *P. brachyurus* nematode extraction, according to the methodology by Jenkins (1964). In these cases, the total nematode

population was calculated through the sum of total nematodes in the roots and in the soil. The analyses were conducted in Peters' slide, under optical microscope at 100× magnification.

Data were subjected to analysis of variance and compared, for each nematode and parameter, through Bonferroni T test, at 5% probability level, in the Sisvar statistical software (FERREIRA, 2014).

## RESULTS

*Meloidogyne incognita* did not show statistical difference in the number of J2, as well as in the total number of nematodes penetrating java roots, in comparison to soybean roots, at the 5th and 10th DAI. The number of nematodes per root gram was higher in the java root at the 10th DAI (Table 1.1). According to the assessments conducted in the 15th, 20th, 25th and 30th DAI, the number of J2, total nematode and nematode per root gram were larger in soybean plants, except at the 20th DAI, when there was no difference between treatments in the number of J2 and nematodes per root gram (Table 1.1).

Third-stage *M. incognita* juvenile (J3) formation started at the 15th DAI, both in soybean and java plants; the number of J3 in soybean roots was larger in all the herein assessed periods. The J4 formation started at the 15th DAI in soybean plants and at the 20th DAI in java plants (Figure 1.1). The largest number of J4 nematodes in soybean roots was recorded at the 20th and 25th DAI; however, this parameter did not show difference between treatments at the 30th DAI. The first adult females were recorded in soybean plants at the 20th DAI, whereas java plants presented female formation in the roots at the 25th DAI. The largest number of adult females was recorded in soybean plants at the 25th DAI (Figure 1.1); however, there was no difference between treatments at the 30th DAI (Table 1.1).

**Table 1.1.** Number of second- (J2), third- (J3) and fourth-stage (J4) female *Meloidogyne incognita* juveniles, total number of nematodes (TN) and nematodes per root gram (NRG) in the root system of java and soybean cultivar CD 206, assessed between the 5th and the 30th day after inoculation (DAI) with 700 nematode eggs and eventual juveniles.

Treatment	J2	J3	J4	Female	TN	NRG
<b>5 DAI</b>						
Java	8.75 <sup>ns</sup>	-	-	-	8.75 <sup>ns</sup>	18.61 b
Soybean	3.50	-	-	-	3.50	1.95 a
MSD	6.0	-	-	-	6.0	5.90
<b>10 DAI</b>						
Java	3.50 <sup>ns</sup>	-	-	-	3.50 <sup>ns</sup>	5.36 <sup>ns</sup>
Soybean	8.25	-	-	-	8.25	3.18
MSD	6.79	-	-	-	6.79	4.50
<b>15 DAI</b>						
Java	9.50 a	0.25 a	0.0 <sup>ns</sup>	-	9.75 a	5.49 a
Soybean	29.25 b	4.75 b	0.50	-	34.50 b	41.21 b
MSD	12.28	4.0	0.91	-	9.75	10.49
<b>20 DAI</b>						
Java	12.75 <sup>ns</sup>	3.00 a	0.25 a	0.00 <sup>ns</sup>	16.00 a	9.61 <sup>ns</sup>
Soybean	12.25	20.25 b	14.75 b	1.00	48.25 b	10.40
MSD	6.16	8.55	7.17	1.29	12.14	7.33
<b>25 DAI</b>						
Java	3.50 a	2.75 a	1.25 a	0.25 a	7.75 a	7.31 a
Soybean	23.75 b	27.25 b	23.25 b	2.00 b	76.25 b	26.58 b
MSD	17.20	14.37	11.90	1.52	37.35	3.20
<b>30 DAI</b>						
Java	3.50 a	1.50 a	1.50 <sup>ns</sup>	0.50 <sup>ns</sup>	7.00 a	2.26 a
Soybean	99.75 b	26.00 b	3.00	3.00	131.75 b	32.88 b
MSD	20.05	20.72	4.00	3.04	41.42	6.25

Means followed by the same letter did not differ from each other in the Bonferroni t-test, at 5% probability. ns= not significant. MSD: minimum significant difference.

There was no significant difference in the number of immature female *R. reniformis* nematodes in the assessments conducted at the 5th, 10th, 15th and 20th DAI; this number was larger in soybean plants at the 25<sup>th</sup> and 30th DAI, only (Table 1.2). Adult female formation was recorded in both cultures after the 15th DAI (Figure 1.2); this parameter did not show significant difference from the 15th DAI on (Table 1.2). There was also no difference between treatments in the total number of nematodes, according to the assessments conducted up to the 20th DAI. However, this variable presented higher values in soybean roots from the 25th DAI (Table 1.2).

Java plants showed larger number of nematodes per root gram in the assessments conducted at the 5th, 10th, 15th and 20th DAI; however, this parameter presented higher values in soybean plants at the 30th DAI (Table 1.2).

**Table 1.2.** Number of immature *Rotylenchulus reniformis* females, adult females, total nematode (TN) and nematode per root gram (NRG) in the root system of java and soybean cultivar Pintado, assessed between the 5th and the 30th day after inoculation (DAI) with 700 specimens.

Treatment	Immature Females	Adult Females	TN	NRG
<b>5 DAI</b>				
Java	5.00 <sup>ns</sup>	-	5.00 <sup>ns</sup>	13.22 b
Soybean	7.25	-	7.25	4.61 a
MSD	13.08	-	13.08	6.84
<b>10 DAI</b>				
Java	10.00 <sup>ns</sup>	-	10.00 <sup>ns</sup>	8.12 b
Soybean	18.25	-	18.25	4.39 a
MSD	13.01	-	13.01	3.16
<b>15 DAI</b>				
Java	16.50 <sup>ns</sup>	0.25 <sup>ns</sup>	16.75 <sup>ns</sup>	4.30 b
Soybean	22.00	1.75	23.75	2.47 a
MSD	14.02	2.05	13.18	1.55
<b>20 DAI</b>				
Java	11.75 <sup>ns</sup>	0.00 <sup>ns</sup>	11.75 <sup>ns</sup>	3.41 b
Soybean	17.25	1.00	18.25	2.29 a
MSD	15.50	1.29	14.37	1.00
<b>25 DAI</b>				
Java	12.25 a	0.25 <sup>ns</sup>	12.50 a	2.15 <sup>ns</sup>
Soybean	19.00 b	1.00	20.00 b	1.98
MSD	4.75	2.38	4.94	1.43
<b>30 DAI</b>				
Java	11.00 a	0.25 <sup>ns</sup>	11.25 a	1.31 a
Soybean	19.50 b	1.25	20.75 b	2.89 b
MSD	5.88	1.29	6.56	0.19

Means followed by the same letter did not differ from each other in the Bonferroni t-test, at 5% probability. ns= not significant. MSD: minimum significant difference.

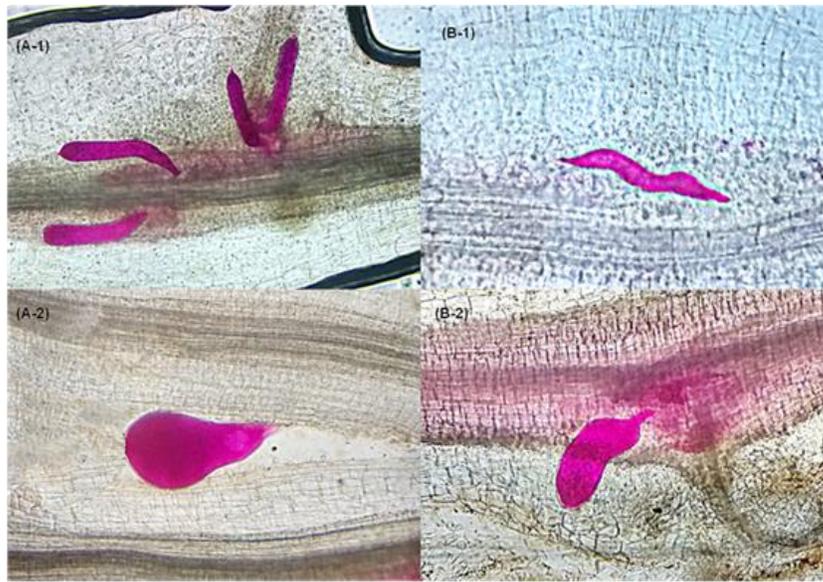
No statistical difference was observed in the total number of *P. brachyurus* penetrating java and soybean roots, according to assessments conducted at the 5th, 10th, 15th and 20th DAI (Table 1.3, Figure 1.3). However, the number of nematodes per root gram was larger in java than in soybean roots, according to assessments conducted at the 5th, 10th and 15th DAI (Table 1.3). Nonetheless, assessments performed at the 25th and 30th DAI showed that the total number of

nematodes was larger in soybean roots, although the variable ‘nematode per root gram’ did not show difference between treatments (Table 1.3).

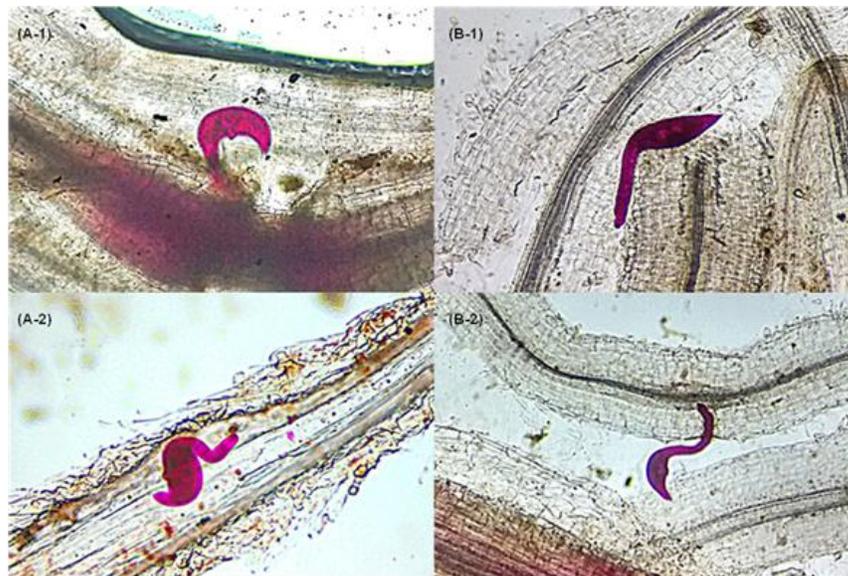
**Table 1.3.** Total number of *Pratylenchus brachyurus* nematodes and nematodes per root gram (NRG) in the root system of java and soybean cultivar Pintado, assessed between the 5th and the 30th day after inoculation (DAI) with 700 specimens.

<b>Treatment</b>	<b>Total number</b>	<b>NRG</b>
	<b>5 DAI</b>	
Java	102.75 <sup>ns</sup>	176.57b
Soybean	62.25	95.72a
DMS	55.19	76.56
	<b>10 DAI</b>	
Java	39.50 <sup>ns</sup>	95.20b
Soybean	26.50	32.75a
DMS	29.25	29.85
	<b>15 DAI</b>	
Java	66.25 <sup>ns</sup>	122.40b
Soybean	130.50	57.65a
DMS	120.21	33.37
	<b>20 DAI</b>	
Java	106.75 <sup>ns</sup>	131.70 <sup>ns</sup>
Soybean	222.75	85.75
DMS	137.93	63.47
	<b>25 DAI</b>	
Java	72.75a	92.70 <sup>ns</sup>
Soybean	276.50b	76.07
DMS	134.37	84.52
	<b>30 DAI</b>	
Java	39.75a	34.55 <sup>ns</sup>
Soybean	140.25b	40.35
DMS	83.47	24.97

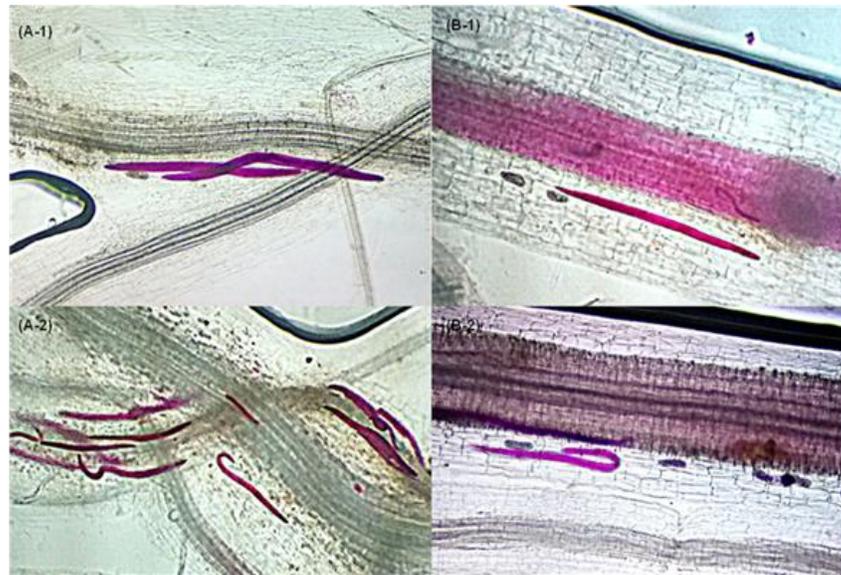
Means followed by the same letter did not differ from each other in the Bonferroni t-test, at 5% probability. ns= not significant. MSD: minimum significant difference.



**Figure 1.1.** *Meloidogyne incognita* in soybean and java roots A-1: J3/J4 of *M. incognita* in soybean plant at the 15th DAI; A-2: *M. incognita* adult female in soybean plant at the 30th DAI; B-1: J3 of *M. incognita* in java plant at the 15th DAI; B-2: *M. incognita* immature female in java plant at the 30th DAI.



**Figure 1.2.** *Rotylenchulus reniformis* in soybean and java roots. A-1: *R. reniformis* adult female in soybean plant at the 15th DAI; A-2: *R. reniformis* adult female in soybean plant at the 30th DAI; B-1: *R. reniformis* immature female in java plant at the 15th DAI; B-2: *R. reniformis* immature female in java plant at the 30th DAI.



**Figure 1.3.** *Pratylenchus brachyurus* in soybean and java roots. A-1: *P. brachyurus* in soybean plant at the 15th DAI; A-2: *P. brachyurus* in soybean plant at the 30th DAI; B-1: *P. brachyurus* in java plant at the 15th DAI; B-2: *P. brachyurus* in java plant at the 30th DAI.

With respect to the reproduction of the three nematode species studied, in plants inoculated with 700 specimens, the total number of nematodes and the number of nematodes per root gram were larger in soybean roots, used as control (Table 1.4). Java plants were susceptible to *P. brachyurus* (RF = 1.87), although they showed RF lower than that recorded in soybean plants (RF = 4.21). On the other hand, the herein assessed legume showed RF equal to 0.51 for *M. incognita*, as well as equal to 0.92 for *R. reniformis* (Table 1.4).

Results recorded in plants inoculated with 1000 specimens were similar to the previously observed ones, *i.e.*, variables “total nematodes” and “nematodes per root gram” presented the lowest values in java roots (Table 1.4). In addition, java plants confirmed susceptibility to *P. brachyurus* (RF = 2.12), as well as resistance to *M. incognita* (RF = 0.61) and to *R. reniformis* (RF = 0.91) (Table 1.4).

**Table 1.4.** Total nematodes (TN), nematodes per root gram (NRG) and reproduction factor (RF) of *Meloidogyne incognita*, *Rotylenchulus reniformis* and *Pratylenchus brachyurus*, in java and soybean roots inoculated with initial population (IP) comprising 700 and 1000 specimens.

<b>IP = 700</b>			
<b>Treatment</b>	<b>TN</b>	<b>NRG</b>	<b>RF</b>
<i>M. incognita</i>			
Java	358 a	85 a	0.51 a
Soybean	3101 b	367 b	4.43 b
CV%	40.83	31.55	40.84
<i>R. reniformis</i>			
Java	650 a	25 a	0.92 a
Soybean	1772 b	84 b	2.53 b
CV%	17.30	37.81	17.30
<i>P. brachyurus</i>			
Java	1870 a	363 a	1.87 a
Soybean	4217 b	731 b	4.21 b
CV%	29.72	31.11	29.72
<b>IP = 1000</b>			
<b>Treatment</b>	<b>TN</b>	<b>NRG</b>	<b>RF</b>
<i>M. incognita</i>			
Java	614 a	183 a	0.61a
Soybean	3997 b	908 b	3.99 b
CV%	18.20	77.80	3.99
<i>R. reniformis</i>			
Java	907 a	32 a	0.91 a
Soybean	2318 b	150 b	2.37 b
CV%	20.88	27.69	20.88
<i>P. brachyurus</i>			
Java	2120 a	603 a	2.12 a
Soybean	6055 b	1104 b	6.05 b
CV%	44.67	36.14	44.67

Means followed by the same letter did not differ from each other in the Bonferroni t-test, at 5% probability. CV = Coefficient of variation.

## DISCUSSION

The java legume proved to be resistant to *M. incognita*, since although adult females were formed, the total number of nematodes and nematodes per root gram at the end of the cycle was smaller than that recorded in soybean plants. Consequently, the low RF showed that nematode multiplication was negatively affected. However, java did not prevent the initial penetration; it was attractive to the nematode, but reduced its reproduction. These results corroborate those

recorded for *M. javanica*, in which the number of nematodes per java root gram was larger than that recorded in soybean plants. Nevertheless, java was resistant to *M. javanica* (FR = 0.12); although it is attractive to root-knot nematodes, it does not allow them to efficiently complete their life cycle (MIAMOTO et al., 2016). Nematodes belonging to genus *Meloidogyne* showed similar results in other pathosystems such as *C. spectabilis* Roth, *C. juncea* L. and *C. paulina* Scrank, which were attractive to *M.javanica* juveniles, allowed high penetration into the root system, but did not allow adult female formation up to the 45th DAI (SILVA et al., 1989b).

Thus, it is hypothesized that the action of java on *M. incognita* may be related to antagonistic substances affecting nematode development. Furthermore, it is possible inferring that the mechanism making this plant resistant is post-infectious and does not inhibit nematode penetration. In other words, nematodes penetrate the roots and induce the feeding site, but somehow such sites are not efficient in nurturing them or are inactivated by some plant resistance gene (WILLIAMSON; KUMAR, 2006). This type of reaction has been recorded in other studies conducted with *Cajanus cajan* (L.) Mill (pigeon pea) cv. Fava Larga—*H. glycines* (VALLE et al., 1997) and *Tagetes* spp.—*M. incognita*, *M. javanica*, *P. brachyurus* and *R. reniformis* (BELCHER; HUSSEY, 1977; BAKKER et al., 1979; HUANG, 1984; SIDDIQUI; ALAM, 1987; HUSSAIN et al., 2011). In the specific case of *Tagetes* spp., the antagonistic reaction results from alpha-tertieryl production, since this substance has direct effect on nematodes (GOMMERS; BAKKER, 1988).

Another hypothesis for the post-infection reaction is the activation of hypersensitivity reaction (HR) (DHANDAYDHAM et al., 2008). This phenomenon is elucidated by the presence of resistance genes in the host (H) and avirulence genes (Avr) in nematodes; the interaction between these genes triggers a cascade of plant defense responses (FULLER et al., 2008). The HR is initially triggered by the production of reactive oxygen species (ROS) (MISHRA et al., 2012); it is followed by other molecular events such as the accumulation of salicylic acid, nitric oxide and different intracellular calcium levels (MURET et al., 2008). Such accumulation results in the localized and rapid death of cells composing the feeding site or of cells adjacent to it (WILLIAMSON, 1999), fact that is common in different associations between plants and nematodes (BRANCH et al., 2004; ANTHONY et al., 2005; MOTTA et al., 2012). This hypothesis is corroborated by histopathological analyses applied to *C. spectabilis* and *C.juncea*

parasitized by *M. javanica*, in which the HR showed formation of giant cells, although in smaller number and size, with dense cytoplasm, few nuclei and, generally, without large vacuoles; such features may have made giant cells less efficient in the nematode nutrition process (SILVA et al., 1990). The same type of reaction and histopathological features were recorded in tomatoes treated with resistance inducers against *M. incognita*, besides increased lignin in the nourishing cells (MELILLO et al., 2014).

Java plants penetrated by *R. reniformis* showed  $RF < 1$ , which is the limit value for a plant to be considered resistant. Thus, it is necessary taking particular care at the time to plant this species in order to reduce the number of nematodes. It is possible saying that the java plant does not allow *R. reniformis* population increase, although it does not drastically reduce its population. Despite the scarcity of studies about *R. reniformis* antagonistic plants, there are reports about some species able to control it, namely: stylosanthes ‘Campo Grande’ (*Stylosanthes capitata* × *S. macrocephala* M. B. Ferreira & N. M. Sousa Costa), peanut (*Arachis hypogaea* L.) and velvet bean (*Mucuna deeringiana* (Bort.) Merr); which were able to reduce the final parasite population in the field (Gardiano et al., 2014). Some crotalaria species are also cited as resistant to *R. reniformis*, since they present  $RF < 1$  (SILVA et al., 1989c; LEANDRO; ASMUS, 2015). Results reported for species *C. juncea* were similar to those recorded in the current study, *i.e.*, the nematode was able to penetrate the roots; however, low reproduction rates and plant interference in female development were recorded (WANG et al., 2001; MARLA et al., 2008).

Results showed that java was more attractive to *P. brachyurus* than soybean; however, java somehow reduced the reproductive rate of this nematode at the 80th DAI, since the RF was lower than that of the control, although it was higher than one. Antagonist plants negatively affect nematode population in different ways; one of them lies on attracting the parasite and allowing its penetration, but hindering its development and reproduction; these plants are also considered unfavorable hosts (FERRAZ; VALLE, 1997). However, the term ‘unfavorable host’ or ‘bad host’ often refers to plants presenting lower RF, although close to 1.0, *i.e.*, plants considered resistant (WANG et al., 2002). Thus, researchers consider some botanic species moderate hosts, since they present RF higher than 1.0, although significantly lower than that recorded in the control (INOMOTO et al., 2006; MACHADO et al., 2007; BORGES et al., 2010). These studies corroborate the current results, since java plants presented RF values 1.87 and 2.12 when they

were inoculated with 700 and 1000 specimens, respectively, and were considered susceptible to the nematode (OOSTENBRINK, 1966); however, java RF values were significantly lower than those recorded in soybean plants (4.21 and 6.05) inoculated with the respective inoculum levels. Similar reproduction factor was recorded in *C. cajan* cv. Fava Larga (RF = 1.57) inoculated with *P. brachyurus* (INOMOTO et al., 2006). However, this cultivar was assessed against two *P. brachyurus* isolates from different regions—Pb20 and Pb24—and presented RF 0.78 and 4.28, respectively, whereas the respective values for soybean cv. Pintado were 1.60 and 6.15 (MACHADO et al., 2007).

Plants with potential to control other nematode species may respond differently to *P. brachyurus* or even to distinct populations of this species, as it was observed in *C. cajan* cv. ‘IAPAR 43’, which enabled *Meloidogyne ethiopica* Whitehead and *R. reniformis* control (LIMA et al., 2009; GARDIANO et al., 2012). Similar result was recorded for *C. juncea*, which allowed reducing *M. javanica* populations (INOMOTO et al., 2008; MIAMOTO et al., 2016), although it was not efficient in controlling *P. brachyurus* (BRAZ et al., 2016). It is worth highlighting that *C. juncea* recorded different RFs for different *P. brachyurus* populations; populations from Goiás State presented RF = 2.16 (BRAZ et al., 2016), those from Rio de Janeiro State recorded RF = 1.13, and populations from Mato Grosso State recorded 4.27 (MACHADO et al., 2007). Thus, it is common for antagonist plants to present varying reactions when they are exposed to a specific nematode genus, species or population; at first, such variation may appear to be more prominent in nematodes with migratory feeding habit.

It is worth pinpointing that plants whose RF is higher than 1, even when this value is lower than that of the susceptible plant, should be carefully used or analyzed in the field, since assessments under experimental conditions are often carried out between the 60th and 90th days after inoculation. However, there are some examples such as the black velvet (*Stizolobium aterrimum* Piper and Tracy), in which *P. zae* Graham showed RF = 1.76 at the 60th DAI. This value was lower than that recorded for maize, which was used as control (RF = 36.40); however, *P. zae* showed RF = 16.69 at the 110th DAI, when it did not statistically differ from maize, which showed RF = 20.40 (SANTANA et al., 2012a).

It is essential conducting further studies to help better understanding the mode of action of antagonistic plants on migratory nematodes, since their behavior overall differs from that

observed in the sedentary ones. In this case, *C. spectabilis* may be used as an example, although it reduces *P. brachyurus* reproduction (SANTANA et al., 2012b; ROSA et al., 2013; DEBIASI et al., 2016). Such activity is attributed to the low attractiveness of the plant or even to its higher resistance to *P. brachyurus* and *P. zaeae* penetration (SILVA et al. 1989a; SANTANA et al. 2012a). Differently, crotalaria plants are attractive to sedentary nematodes; however, they present giant cell dysfunction, fact that makes them less efficient in feeding the parasite (SILVA et al., 1990).

## CONCLUSION

Java plants do not prevent *M. incognita* and *R. reniformis* penetration; however, it is considered resistant to both nematodes, since it shows reproduction factor lower than 1. Thus, it is necessary conducting additional studies with *R. reniformis*, since the herein recorded reproductive factor was very close to 1. Java is susceptible to *P.brachyurus*, although it presents reproduction factor lower than that recorded for soybean plants.

## REFERENCES

- ABRASEM - Associação Brasileira de Sementes e Mudás. Consolidando o Sistema Sementeiro junto ao Agronegócio Nacional. **Anuário 2006**. Pelotas, 86p. 2006
- ANDRADE, L. B. S.; OLIVEIRA, A. S.; RIBEIRO, J. C.; KIYOTA, S.; VASCONCELOS, I. M.; OLIVEIRA, J. T. A.; SALES, M. P. Effects of a novel pathogenesis-related class 10 (PR-10) protein from *Crotalaria pallida* roots with papain inhibitory activity against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, n. 7, p. 4145–4152, 2010.
- ANTHONY, F.; TOPART, P.; MARTINEZ, A.; SILVA, M.; NICOLE M. Hypersensitive-like reaction conferred by de Mex-1 resistance gene against *Meloidogyne exigua* in coffee. **Plant Pathology**, Oxford, v. 54, n. 4, p. 476-482. 2005.
- BAKKER, J.; GOMMERS, F. J.; NIEUWENHUIS, I.; WYNBERG, H. Photoactivation of the nematicidal compound alfa-terthienyl from roots marigolds (*Tagetes* species). A possible singlet oxygen role. **Journal of Biological Chemistry**, Rockvill, v. 254, n. 6, p. 1841-1844, 1979.
- BARBOSA, L. C. A.; BARCELOS, F. E.; DEMUNER, A. J.; SANTOS, M. A. Chemical constituents from *Mucuna aterrima* with activity against *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines*. **Nematropica**, Auburn, v. 29, n. 1, p. 81-88, 1999.

- BELCHER, J. V.; HUSSEY, R. S. Influence of *Tagetes patula* and *Arachis hypogaea* on *Meloidogyne incognita*. **Plant Disease Report**, St. Paul, v. 61, n. 1, p. 525-528, 1977.
- BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, n. 1, v. 553, 1981.
- BORGES, D. C.; MACHADO, A. C. Z.; INOMOTO M. M. Reação de aveias a *Pratylenchus brachyurus*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, n. 3, p. 178-181, 2010.
- BRANCH, C.; HWANG, C. F.; NAVARRE, D. A.; WILLIAMSON, V. M. Salicylic acid in part of the Mi-1-mediated defense response to root-knot nematode in tomato. **Molecular Plant-Microbe Interactions Journal**, v. 17, n. 4, p. 351-357, 2004.
- BRAZ, G. B. P.; OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J.; RAIMONDI, R. T.; RIBEIRO, L. M.; GEMELLI, A.; TAKANO, H. K. Weeds as alternative hosts for *Pratylenchus brachyurus*. **Summa Phytopathology**, Botucatu, v. 42, n. 3, p. 233-238, 2016.
- BYRD JUNIOR, D. W.; KIRPATRICK, J.; BARKER, K. R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, Auburn, v. 15. N. 1, p. 142-143, 1983.
- CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, St. Paul, v. 40, n. 1, p. 221-249, 2002.
- COLEGATE, S. M.; GARDNER, D. R.; JOY, R. J.; BETZ, J. M.; PANTER, K. E. Dehydropyrrolizidine alkaloids, including monoesters with an unusual esterifying acid, from cultivated *Crotalaria juncea* (sunn hemp cv. 'Tropic Sun'). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 60, n. 14, p. 3541-3550, 2012.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Belgium: Ghent, 1972.
- CURTO, G.; DALLAVALLE, E.; SANTI, R.; CASADEI, N.; D'AVINO, L.; LAZZERI, L. The potential of *Crotalaria juncea* L. as a summer green manure crop in comparison to Brassicaceae catch crops for management of *Meloidogyne incognita* in the Mediterranean area. **European Journal of Plant Pathology**, Oxford, v. 142, n. 4, p. 829-841, 2015.
- DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.; DIAS, W. P.; RAMOS JUNIOR, E. U.; BALBINOT JUNIOR, A. A. Práticas culturais na entressafra da soja para o controle de *Pratylenchus brachyurus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 10, p. 1720-1728, 2016.
- DHANDAYDHAM, M.; CHARLES, L.; ZHU, H.; STARR, J. L.; HUGUET, T.; COOK, D. R.; PROSPERI, J. M.; OPPERMAN, C. Characterization of root-knot nematode resistance in *Medicago truncatula*. **Journal of Nematology**, Auburn, v. 40, n. 1, p. 46-54, 2008.

FERRAZ, S.; VALLE, L. A. C. **Controle de fitonematóides por plantas antagônicas**. Viçosa: UFV. 1997.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

FULLER, V. L.; LILLEY, C. J.; URWIN, P. E. Nematode Resistance. **New Phytologist**, St. Paul, v. 180, n. 1, p. 27-44, 2008.

GABRIEL, D. W.; ROLFE, B. G. Working models of specific recognition in plant-microbe interactions. **Annual Review of Phytopathology**, Oxford, v. 28, n. 1, p. 365-391, 1990.

GARDIANO, C. G.; KRZYZANOWSKI, A. A.; SAAB, O. J. G. A. Efficiency of green manure species on the population of reniform nematode. **Semina Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 719-726, 2014.

GARDIANO, C. G.; KRZYZANOWSKI, A. A.; SAAB, O. J. G. A. Hospedabilidade de plantas melhoradas de solo à *Rotylenchulus reniformis* Lindorf e Oliveira (1940). **Arquivos do Instituto Biológico**, Vila Mariana, v. 79, n. 2, p. 313-317, 2012.

GOMMERS, F. J.; BAKKER J. Physiological changes induced by plant responses or products. In: POINAR JR, G. O.; JANSSEN, H. B. (Ed.), **Diseases of nematodes**. Boca Raton: CRC Press Inc. 1988. pp. 46-49.

GUZMÁN, P. O. El nematodo Barrenador (*Radopholus similis* {Cobb} Thorne) del banano y plátano. **Luna Azul**, v. 32, n. 1, p. 137-153, 2011.

HUANG S. P. Cropping Effects of Marigolds, Corn, and Okra on Population Levels of *Meloidogyne javanica* and on Carrot Yields. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 16, n. 4, p. 396-398, 1984.

HUSSAIN, M. A.; MUKHTAR, T.; KAYANI M. Z. Efficacy evaluation of *Azadirachta indica*, *Calotropis procera*, *Datura stramonium* and *Tagetes erecta* against Root-knot nematodes *Meloidogyne incognita*. **Pakistan Journal of Botanical**, Karachi, v. 43, n. 1, p. 197-204, 2011.

INOMOTO, M. M.; ANTEDOMÊNICO, S. R.; SANTOS, V. P.; SILVA, R. A.; ALMEIDA, G. C. Greenhouse evaluation of the potential of sorghum, pearl millet and crotalaria in the management of *Meloidogyne javanica*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 2, p. 125-129, 2008.

INOMOTO, M. M.; MOTTA, L. C. C.; MACHADO, A. C. Z.; SAZAKI, C. S. S. Reação de dez coberturas vegetais a *Pratylenchus brachyurus*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 30, n.2, p. 151-157, 2006.

JENKINS, W. R. A. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, St. Paul, v. 48, n. 1, p. 692, 1964.

KUMAR, A. R.; KUMAR, N.; POORNIMA, K.; SOORIANATHASUNDARAM, K. Screening of in-vitro derived mutants of banana against nematodes using bio-chemical parameters. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**, v. 2, n. 3, p. 271–278, 2008.

LEANDRO, H. M.; ASMUS, G. L. Crop rotation and crop sequences for the management of the reniform nematode in area of soybean production. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 6, p. 945-950, 2015.

LIMA, E. A.; MATTOS, J. K.; MOITA, A. W.; CARNEIRO, R. G.; CARNEIRO, R. M. D. G. Host status of different crops for *Meloidogyne ethiopica* control. **Tropical Plant Pathology**, St. Paul, v. 34, n. 3, p. 152-157, 2009.

MACHADO, A. C. Z.; MOTTA, L. C. C.;SIQUEIRA, K. M. S.; FERRAZ, L. C. C. B.; INOMOTO, M. M. Host status of green manures for two isolate of *Pratylenchus brachyurus* in Brazil. **Nematology**, Florida, v. 9, n. 6, p. 799-805, 2007.

MARLA, S. R.; HUETTEL, R. N.; MOSJIDIS, J. Evaluation of *Crotalaria juncea* populations as hosts and antagonistic crops to manage *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis*. **Nematropica**, Auburn, v. 38, n. 2, p. 155-161, 2008.

MELILLO, M. T.; LEONETTI, P.; VERONICO, P. Benzothiadiazole effect in the compatible tomato-*Meloidogyne incognita* interaction: changes in giant cell development and priming of two root anionic peroxidases. **Planta**, v. 240, n. 4, p. 841–854, 2014.

MIAMOTO, A.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; CARDOSO, M. R.; PUERARI, H. H. Penetration and reproduction of *Meloidogyne javanica* on leguminous crops. **Journal of Phytopathology**, Medford, v. 164, n. 11-12, p. 890-895, 2016.

MISHRA, A. K.; SHARMA, K.; MISRA, R. S. Elicitor recognition, signal transduction and induced resistance in plants. **Journal of Plant Interactions**, v. 7, n. 2, p. 95-120, 2012.

MOTTA, F. C.; ALVES. G. C. S.; GIBAND, M.; GOMES, A. C. M. M.; SOUZA, F. R.; MATTOS, V. S.; BARBOSA, V. H. S.; BARROSO, P. A. V.; NICOLE, M.; PEIXOTO, J. R.; ROCHA, M. R.; CARNEIRO, R. M. D. G. New sources of resistance to *Meloidogyne incognita* race 3 in wild cotton accessions and histological characterization of the defence mechanisms. **Plant Pathology**, St. Paul, v. 62, n. 5, p.1173-1183, 2012.

MUR, L. A. J.; KENTON, P.; LLOYD, A. J.; OUGHAN, H.; PRATS, E. The hypersensitive response: the centenary is upon us but how much do we know? **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 59, v. 3, p.501-520, 2008.

NYCZEPIR, A. P.; THOMAS, S. H. Current and future management strategies in intensive crop production systems. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.;STARR, J. L. (ed.), **Root-knot nematodes** United Kingdom: CABI.2009.421-443.

OKA, Y. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments: A review. **Applied Soil Ecology**, Medford, v. 44, n. 2, p. 101-115, 2010.

OOSTENBRINK, R. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Meded Land-bouwhogeschool, New York, v. 66, n. 4, p. 46, 1966.

PAIVA, A. S.; RODRIGUES, R. J. D.; CANCIANA, A. J.; LOPES, M. M.; FERNANDES, A. C. Physiological and physical quality of seed of the forage legume *Macrotyloma axillare* cv. Java. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 130-136, 2008.

PUDASAINI, M. P.; VIAENE, M.; MOENS, M. Effect of marigold (*Tagetes patula*) on population dynamics of *Pratylenchus penetrans*, in a field. **Nematology**, Auburn, v. 8, n. 4, p. 477-484, 2006.

ROSA, J. M. O.; WESTERICH, J. N.; WILCKEN, S. R. S. *Meloidogyne javanica* reproduction on vegetable crops and plants used as green manure verde. **Tropical Plant Pathology**, St. Paul, v. 38, n. 2, p. 133-141, 2013.

SANKAR, C.; SOORIANATHASUNDARAM, K.; KUMAR, N.; KARUNAKARAN, G.; SIVAKUMAR, M. Induction of resistance to *Radopholus similis* and defense related mechanism in susceptible and resistance banana hybrids infected with *Radopholus similis*. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, Tamilnadu, v. 6, n. 4, p. 1668-1684., 2017.

SANTANA, S. M.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; BIELA, F.; CUNHA, T. P. L.; CHIAMOLERA, F. M.; PUERARI, H. H.; FONTANA, L. F. Root lesion nematodes management with antagonistic plants in sugarcane growing areas. **Nematropica**, Auburn, v. 42, n. 1, p. 63-71, 2012.

SANTANA, S. M.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; BIELA, F.; CUNHA, T. P. L.; CHIAMOLERA, F. M.; ROLDI, M.; ABE, V. H. F. Antagonistic plants in the management of *Meloidogyne incognita*, in sandy soil of vegetables growing areas. **Nematropica**, Auburn, v. 42, n. 2, p. 287-294, 2012b.

SIDDIQUI, M. A.; ALAM, M. M. Utilization of Marigold Plant Wastes for the Control of Plant Parasitic Nematodes. **Biological Wastes**, Medford, v. 21, n. 3, p. 221-229, 1987.

SILVA, G. S.; FERRAZ S.; SANTOS, J. M. Resistência de espécies de *Crotalaria* a *Rotylenchulus reniformis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 13, n. 1, p. 87-92, 1989c.

SILVA, G. S.; FERRAZ, S.; SANTOS, J. M. Atração, penetração e desenvolvimento de larvas de *Meloidogyne javanica* em raízes de *Crotalaria* spp. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 13, n. 1, p. 151-163, 1989b.

SILVA, G. S.; FERRAZ, S.; SANTOS, J. M. Histopatologia de raízes de *Crotalaria* parasitadas por *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 15, n.1, p. 46-48, 1990).

SILVA, G. S.; FERRAZ, S.; SANTOS, J. M. Resistance of *Crotalaria* species to *Pratylenchus brachyurus* and *P. zaei*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 13, n. 1, p. 81-86, 1989a.

VALETTE, C.; ANDARY, C.; GEIGER, J. P.; SARAH, J. L.; NICOLE, M. Histochemical and cytochemical investigations of phenols in roots of banana infected with burrowing nematode *Radopholus similis*. **Nematology**, Auburn, v. 88, n. 11, p. 1141-1148, 1998.

VALLE, L. A. C.; FERRAZ, S.; TEIXEIRA, D. A. Estímulo à eclosão de juvenis, penetração e desenvolvimento de *Heterodera glycines* em raízes de mucuna preta (*Mucuna aterrima*) e feijão guandu (*Cajanus cajan*). **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 21, n. 1, p. 67-83, 1997.

VEDOVETO, M. V. V.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; RODRIGUES, D. B.; ARIEIRA, J. O.; ROLDI, M.; SEVERINO JUNIOR, J. Adubos verdes no manejo de *Pratylenchus brachyurus* em soja. **Nematropica**, Auburn, v. 43, n. 2, p. 226-232, 2013.

WANG, K. H.; SIPES, B. S.; SCHMITT, D. P. Crotalaria as a cover crop for nematode management. **Nematropica**, Auburn, v. 32, n. 1, p. 35-57, 2002.

WANG, K. H.; SIPES, B. S.; SCHMITT, D. P. Suppression of *Rotylenchulus reniformis* by *Crotalaria juncea*, *Brassica napus*, and *Tagetes erecta*. **Nematropica**, Auburn, v. 31, n. 2, p. 235-249, 2001.

WATANABE, N.; LAM, E. Recent advance in the study of caspase-like proteases and Bax inhibitor-1 in plants: their possible roles as regulator of programmed cell death. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 5, n. 1, p. 65-70, 2004.

WILLIAMSON, V. M. Plant nematode resistance genes. **Current Opinion in Plant Biology**, Medford, v. 2, n. 4, p. 327-331, 1999.

WILLIAMSON, V. M.; KUMAR, A. Nematode resistance in plants: the battle underground. **Trends Genetics**, Cambridge, v. 22, n. 7, p. 396-403, 2006.

WUYTS, N.; WAELE, D.; SWENNEN, R. Activity of phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase and polyphenol oxidase in root of banana (*Musa acuminata* AAA, cvs. Grande Naine and Yangambi km5) before and after infection with *Radopholus similis*. **Nematology**, Auburn, v. 8, n. 2, p. 201-209, 2006.

**CAPÍTULO 2**

**Desenvolvimento e histopatologia de *Meloidogyne javanica* em *Macrotyloma axillare* cv. Java**

## **Desenvolvimento e histopatologia de *Meloidogyne javanica* em *Macrotyloma axillare* cv. Java**

### **RESUMO**

O parasitismo do nematoide das galhas é complexo, e, após penetrarem as raízes do hospedeiro, induzem a formação de sítios de alimentação, causando a hipertrofia e hiperplasia celular. Plantas resistentes aos nematoides não inibem necessariamente a infecção do mesmo, podendo apresentar má formação das células nutridoras. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a penetração, desenvolvimento, reprodução e histopatologia da interação de *Meloidogyne javanica* em raízes de *Macrotyloma axillare* cv. Java, planta com potencial antagonista à este nematoide. Plantas de java e soja cv. Pintado foram inoculadas com uma população inicial de 3000 ovos e J2 de *M. javanica*. Do 8º ao 30º (dias após a inoculação) DAI, quatro plantas de cada tratamento foram coletadas com intervalo de dois dias, para avaliar a penetração e desenvolvimento do nematoide, por meio da metodologia de coloração por fucsina ácida. Para avaliação da reprodução, utilizou-se dois níveis de inóculo, 700 ou 1000 ovos e J2 de *M. javanica*, calculando posteriormente o fator de reprodução. Para avaliação histológica, sementes da java e soja cv. Pintado foram inoculadas 15 dias após a germinação, com 1000 ovos e J2 de *M. javanica* por vaso. Quatro raízes de cada planta foram avaliadas aos 10, 15 e 30 DAI. Os fragmentos de raízes coloridos foram observados em microscópio de luz, para visualização do desenvolvimento do nematoide, bem como a formação de sítios de alimentação. Java é resistente a *M. javanica*, entretanto, possui potencial antagonista, uma vez que não impede que o mesmo penetre as raízes, mas afeta negativamente o ciclo de vida do mesmo, causando ineficiência no sítio de alimentação do nematoide.

**Palavras-chave:** Leguminosa. Resistência. Antagonista. Nematoide das galhas.

## **Development and histopathology of *Meloidogyne javanica* in *Macrotyloma axillare* cv. Java**

### **ABSTRACT**

The root-knot nematode parasitism is complex, and, after penetrating the roots of the host, induce the formation of feeding sites, causing the cellular hypertrophy and hyperplasia. Plants resistant to nematodes do not necessarily inhibit the infection of the same, and may present malformation of the nourishing cells. Thus, the objective of this work was to evaluate the penetration, development, reproduction and hispotapology of the interaction of *Meloidogyne javanica* on roots of *Macrotyloma axillare* cv. Java, plant with potential antagonist to this nematode. Plants of java and soybean cv. Were inoculated with an initial population of 3000 eggs and J2 of *M. javanica*. From the 8th to the 30th (days after inoculation) DAI, four plants of each treatment were collected with interval of two days, to evaluate the penetration and development of the nematoid, through the methodology of acid fuchsin staining. To evaluate the reproduction, two levels of inoculum, 700 or 1000 eggs and J2 of *M. javanica* were used, and the reproductive factor was calculated. For histological evaluation, java and soybean seeds cv. Were inoculated 15 days after germination with 1000 eggs and J2 of *M. javanica* per pot. Four roots of each plant were evaluated at 10, 15 and 30 DAI. The colored root fragments were observed under a light microscope, for visualization of the development of the nematode, as well as the formation of feeding sites. Java is resistant to *M. javanica*, however, it has an antagonistic potential, since it does not prevent it from penetrating the roots, but negatively affects its life cycle, causing inefficiency in the feeding site of the nematode.

**Keywords:** Leguminous. Resistance. Antagonist. Root-knot nematode.

## INTRODUÇÃO

O gênero *Meloidogyne*, comumente conhecido como nematoide das galhas, compreende as principais espécies de nematoides parasitas de plantas, principalmente pela ampla distribuição geográfica e ampla gama de hospedeiros (MOENS et al., 2009; JONES et al., 2013; OKENDI et al., 2014). Já foram relatadas mais de 100 espécies de *Meloidogyne* parasitando as mais diferentes plantas em todo o mundo e estimam-se prejuízos de 157 bilhões de dólares em nível global (ABAD et al., 2008), causando perdas na colheita de 30 a 50%, em culturas como banana, fumo, mandioca, soja, entre outros (WHITEHEAD, 1969; FOURIE et al., 2001; COYNE et al., 2006). Na cultura da soja (*Glycine max* L. Merrill), entre as espécies que mais limitam a produção destacam-se *M. javanica* (Treb) Chitwood e *M. incognita* (Kofoid and White) Chitwood (CASTRO et al., 2003).

O parasitismo do nematoide das galhas é complexo e envolve a formação de sítios de alimentação, que são caracterizados por células hipertrofiadas e multinucleadas (WILLIAMSON; GLEASON, 2003; WANDERLEY; SANTOS, 2004; ABAD et al., 2009), onde o nematoide retira os nutrientes necessários para seu desenvolvimento (ALMEIDA-ENGLES; GHEYSEN, 2013).

Qualquer interferência nesse sítio de alimentação pode acarretar em danos ao desenvolvimento do nematoide, podendo levá-lo à morte (WILLIAMSON; HUSSEY, 1996; FARIA et al., 2003). Plantas resistentes aos nematoides não inibem, necessariamente, a infecção do mesmo, mas podem apresentar má formação das células nutridoras, que se tornam ineficientes para sua alimentação (MORITZ et al., 2008a; SILVA et al., 2013). Além da formação do sítio de alimentação ineficiente, podem ocorrer outros mecanismos de resposta da planta, como a reação de hipersensibilidade (RH), ou seja, a morte rápida e programada dos tecidos infectados e aqueles ao redor do sítio de alimentação, como resposta de defesa natural ao ataque do patógeno (WATANABE; LAM, 2004).

Além de plantas melhoradas geneticamente, visando resistência aos nematoides, exemplos de interferência na formação e manutenção do sítio de alimentação pode ser observados em algumas plantas antagonistas, como nas espécies de crotalária, cuja eficiência no controle de nematoides tem sido amplamente comprovada (INOMOTO et al., 2006; OHARA et al., 2012; DANAHAAP; WONANG, 2015). Análises histopatológicas realizadas em *Crotalaria spectabilis*

Roth e *C. juncea* L., parasitadas por *M. javanica*, evidenciaram a formação de células gigantes em menor número e tamanho, com poucos núcleos e sem grandes vacúolos, resultando em menor eficiência na alimentação do nematoide (SILVA et al., 1990). Além disso, os autores observaram a ocorrência de RH ao redor das células nutridoras, em ambas as espécies de crotalária.

Sano e Nakasono (1986), estudando a histopatologia envolvida na interação entre *M. incognita* e *C. spectabilis*, constataram que as células gigantes foram induzidas de forma semelhante ao observado em plantas de tomate, mas que o espessamento da parede celular foi menor, sendo que dois terços dessas células se degeneraram em até 23 dias após a inoculação. Além disso, juvenis de segundo estágio (J2) não conseguiram se desenvolver até o terceiro estágio (J3) em *C. spectabilis*, bem como em *Arachis hypogaea* L., devido à formação de células vazias e necróticas em contato com o nematoide nos locais de infecção. Mecanismo semelhante ocorre em raízes de *Tagetes patula* L., em que os J2 de *M. incognita* não se desenvolveram por não conseguirem formar os sítios de alimentação (células gigantes), devido às reações necróticas causadas pela RH (RANGASWAMY et al., 1993).

Apesar da atividade antagônica conhecida de algumas espécies, outras têm sido pouco estudadas. Um exemplo é a leguminosa java (*Macrotyloma axillare* (E. Mey.) Verdc. cv. Java), pertencente à família Fabaceae, obtida pelo cruzamento de duas outras cultivares, a Archer e Guatá (ABRASEM, 2006). A cultivar vem sendo utilizada em programas de recuperação de solos degradados e revegetação, devido ao seu efeito protetor do solo e alta capacidade de cobertura, protegendo o mesmo contra a erosão (SILVA et al., 2007). Além disso, vem sendo estudada quanto ao potencial de controle de fitonematoides, uma vez que a mesma comportou-se como resistente a *M. javanica*, com possível efeito antagonista, visto que o nematoide penetrou suas raízes, mas apresentou reprodução limitada (MIAMOTO et al., 2016).

Sendo assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a penetração, desenvolvimento e reprodução de *M. javanica* em raízes de java e realizar o estudo histopatológico da infecção pelo nematoide.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e em laboratório no campus da Universidade Estadual de Maringá, localizado em Umuarama, PR (23°47'28,4"S, 53°15'24,0"W,

379 metros), em delineamento inteiramente casualizado, disposto em fatorial 2 x 12 (duas plantas e 12 épocas de avaliação).

Para avaliação da penetração de *M. javanica*, plântulas de java e soja cv. Pintado (testemunha) foram obtidas por germinação em bandejas de poliestireno, com substrato comercial. Quinze dias após a germinação, as mesmas foram transplantadas para vasos contendo 700 mL de uma mistura de solo e areia na proporção 1:1, esterilizado por autoclavagem (2 horas / 120 °C).

Dois dias após o transplante, as plântulas foram inoculadas com uma população inicial (Pi) de 3000 ovos e eventuais juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica* por planta, depositando-se a suspensão contendo os nematoides em quatro orifícios equidistantes abertos no solo, ao redor de cada planta, com aproximadamente 2 cm de profundidade. Os nematoides utilizados como inóculo foram obtidos a partir de uma população pura, mantida em tomateiro (cv. Santa Clara) em casa de vegetação, e extraídos do sistema radicular segundo a metodologia de Hussey e Barker (1973), adaptada por Boneti e Ferraz (1981).

Do 8º ao 30º dia após a inoculação (DAI), quatro plantas de cada tratamento foram coletadas a cada dois dias, visando-se avaliar a penetração e desenvolvimento do nematoide. Para isso, o sistema radicular das mesmas foi cuidadosamente separado da parte aérea, lavado e depositado sobre papel toalha, para retirar o excesso de água. Em seguida, determinou-se a massa fresca das raízes, seguida da coloração das mesmas, utilizando-se a metodologia da fucsina ácida (BYRD JUNIOR et al., 1983). Lâminas temporárias, contendo todos os fragmentos de raiz de cada planta, foram confeccionadas e observadas em microscópio de luz, sob aumento de 100x, avaliando-se o número de nematoides que penetraram o sistema radicular, bem como seus estádios de desenvolvimento, classificando-os como J2, J3, J4 (juvenis de segundo, terceiro e quarto estádios, respectivamente) e fêmeas.

A reprodução do nematoide também foi avaliada e, para isso, solo e plântulas foram obtidas conforme citado anteriormente, mas, neste caso, foram inoculadas dois dias após o transplante com dois níveis de inóculo inicial (Pi), 700 ou 1000 ovos e eventuais J2 de *M. javanica*. As plantas foram mantidas em casa de vegetação por 60 dias e, posteriormente, o sistema radicular foi coletado, lavado e pesado. Os nematoides foram extraídos através da metodologia de Hussey e Barker (1973), adaptada por Boneti e Ferraz (1981), e quantificados em

câmara de Peters, sob microscópio de luz, obtendo-se a população final (Pf). Posteriormente, calculou-se o fator de reprodução (FR) do nematoide, de acordo com o proposto por Oostenbrink (1966), em que  $FR = Pf/Pi$ . Para cada tratamento foram avaliadas sete repetições.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, para atender os pressupostos de normalidade (teste de Shapiro Wilk), foram transformados por  $\sqrt{(x + 0,5)}$ . As médias obtidas para o fator planta foram comparadas pelo teste T de Bonferroni, enquanto a época, pelo teste de Scott-Knott, ambos a 5% de probabilidade, usando-se o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2014).

Para avaliação histopatológica, sementes da java e soja foram semeadas em vasos de 200 mL e inoculadas 15 dias após a germinação com 1000 ovos e eventuais J2 de *M. javanica* por vaso. Quatro raízes de cada planta foram retiradas cuidadosamente e lavadas, para avaliações aos 10, 15 e 30 DAI. O preparo das raízes para posterior corte foi realizado de acordo com Pergard et al. (2005), no qual 20 fragmentos de raízes de aproximadamente 0,5 cm foram seccionados, sendo selecionadas partes das raízes com galhas visíveis, e imersos por 24 horas em fixador a 2% de paraformaldeído, 1% de glutaraldeído, em 0,1M de tampão fosfato e pH 7,00, sob agitação constante.

Em seguida, as amostras de raízes foram desidratadas em etanol em concentrações crescentes (10, 30, 50, 70, 80, 90 e 100%) e, posteriormente, os fragmentos foram depositados em microtubos e impregnados em resina Technovit<sup>®</sup> 7100, de acordo com o protocolo do fabricante. Foram seccionados fragmentos de 1 a 2  $\mu$ m em ultramicrótomo Luptec<sup>®</sup> MRP 2015 e depositados em gotas de água destilada, em lâminas de microscopia, sobre uma placa aquecedora, para a secagem e fixação dos cortes nas lâminas. Em seguida, as amostras foram coloridas com azul de toluidina a 0,5% e observadas em microscópio de luz, para visualização do desenvolvimento do nematoide, bem como da formação dos sítios de alimentação. Os cortes histopatológicos selecionados foram fotografados para observação e comparação de java e soja, por meio de análise descritiva.

## RESULTADOS

A interação entre os fatores foi significativa para o número de J2 no interior das raízes, sendo observado menor número nas raízes da java, comparado à soja, aos 10, 12 e 14 DAI,

enquanto nas demais épocas estes foram iguais para soja e java (Tabela 2.1). Por outro lado, o fator época, não foi significativo para ambas as plantas.

Não houve interação entre os fatores planta e época para o número de J3. Contudo, ambos os fatores foram significativos isoladamente. Para planta, menor número de J3 foi observado nas raízes de java (média de 1,31) se comparado à soja (7,39), enquanto que, para a época, as menores médias foram obtidas na avaliação realizada aos 8 DAI, seguida de 10, 12, 14 e 16 DAI, se comparados às demais avaliações (dados não apresentados).

A interação entre os fatores também foi significativa para o número de J4 e, neste caso, com exceção do 8° e 16° DAI, quando o número em java e soja não diferiu estatisticamente, em todas as demais épocas o número de J4 foi superior nas raízes de soja (Tabela 2.1). No estudo da época dentro de cada planta, observou-se que, para soja, o menor valor foi obtido aos 8 DAI, seguido de 10 e 16 DAI, se comparado às demais. Por outro lado, em java não houve diferença estatística no número de J4 nas diferentes épocas de estudo, cujas médias variaram de 0,0 a 0,6 (Tabela 2.1).

Vale destacar que, na primeira avaliação, realizada no 8° DAI, observou-se a formação de juvenis de terceiro (J3) e quarto estágio (J4) nas raízes de soja, enquanto que, em java, a formação de J3 e J4 ocorreu apenas no 10° e 14° DAI, respectivamente (Tabela 2.1).

No 14° DAI, foram observadas as primeiras fêmeas nas raízes de soja, contudo, em java não houve formação de fêmeas adultas até o final das avaliações (Tabela 2.1). No desdobramento da interação, que foi significativa, foi verificada diferença entre as plantas do 20° ao 30° DAI, sendo o número de fêmeas sempre superior nas raízes de soja. Da mesma forma, no estudo da época dentro do fator soja, observaram-se maiores médias de fêmeas neste mesmo período de avaliação, enquanto que, para java, não houve diferença entre as médias durante todo o período de avaliação.

Por fim, para número total de nematoides, o desdobramento mostrou que, com exceção do 8° e 16° DAI, quando as médias nas diferentes plantas não diferiram entre si, em todas as demais épocas estas foram superiores na cultura da soja (Tabela 2.1). No desdobramento da época dentro da planta, na soja as menores médias foram observadas aos 8 e 16 DAI e, em java, nas quatro primeiras avaliações, ou seja, 8, 10, 12 e 14 DAI.

Para o número de  $J2.g^{-1}$  de raiz, com exceção das avaliações realizadas aos 12 e 14 DAI, em todas as demais épocas o número foi superior nas raízes de java (Tabela 2.2). A época foi significativa para java, com maiores médias obtidas aos 8 DAI, seguida de 16 e 18 DAI. Diferentemente, o número de  $J3.g^{-1}$  de raiz foi superior na soja aos 10, 12 e 14 DAI e, em java, aos 28 DAI, não diferindo estatisticamente nos demais períodos. O fator época não diferiu para soja e, em java, a média foi superior apenas aos 28 DAI (Tabela 2.2).

Apenas o fator planta afetou significativamente o número de  $J4.g^{-1}$  de raiz, sendo a média em soja (1,38) superior a java (0,43) (dados não apresentados). O número de fêmeas. $g^{-1}$  de raiz, por sua vez, foi superior nas raízes de soja a partir do 20<sup>o</sup> DAI. A época foi significativa apenas para a soja, com médias superiores a partir da mesma data de avaliação (Tabela 2.2).

O número de nematoides total. $g^{-1}$  de raiz foi superior em java nas avaliações realizadas aos 8, 16, 18, 24, 28 e 30 DAI e, quanto à época, foi superior em java aos 8 DAI, seguido de 16, 18 e 28 DAI, enquanto que, para soja, não houve diferença significativa (Tabela 2.2).

**Tabela 2.1.** Número de juvenis de segundo (J2), e quarto estágio (J4), fêmeas e número total de *Meloidogyne javanica* no sistema radicular de java e soja cv. Pintado, avaliados entre o 8° e 30° dia após inoculação (DAI) com 3000 ovos do nematoide.

Trat.	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
<b>J2</b>												
Soja	6,7 aA	10,2 aA	12,0 aA	10,5 aA	6,2 aA	5,2 aA	11,5 aA	5,5 aA	5,5 aA	10,2 aA	9,2 aA	6,7 aA
Java	5,7 aA	5,0 bA	3,7 bA	2,2 bA	9,2 aA	11,0 aA	6,0 aA	5,7 aA	8,2 aA	6,7 aA	6,0 aA	7,5 aA
CV%	27,34											
<b>J4</b>												
Soja	0,5 aC	7,5 aB	14,7 aA	6,7 aA	5,7 aB	14,2 aA	17,7 aA	7,0 aA	9,7 aA	8,5 aA	11,5aA	10,0 aA
Java	0,0 aA	0,0 bA	0,0 bA	0,2 bA	0,7 aA	0,2 bA	0,0 bA	0,2 bA	0,5 bA	0,2 bA	0,7bA	0,7 bA
CV%	46,01											
<b>Fêmeas</b>												
Soja	0,0 aB	0,0 aB	0,0 aB	0,5aB	0,0 aB	1,5 aB	5,5 aA	3,0 aA	3,7 aA	3,0 aA	7,2 aA	4,2 aA
Java	0,0 aA	0,0 aA	0,0aA	0,0 aA	0,0 aA	0,0 aA	0,0 bA					
CV%	61,31											
<b>Nematoide Total</b>												
Soja	8,7 aB	26,2 aA	34,7 aA	24,0 aA	15,5 aB	28,7 aA	42,2 aA	25,5 aA	26,7 aA	28,7 aA	36,7 aA	33,2 aA
Java	5,7 aB	5,2 bB	4,0 bB	2,5 bB	10,7 aA	12,7 bA	8,5 bA	7,5 bA	10,5 bA	9,0 bA	10,2 bA	10,0 bA
CV%	19,13											

Para cada fase de desenvolvimento do nematoide e época de avaliação, médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste t de Bonferroni e Scott-Knott a 5% de probabilidade. Trat. = tratamento. CV = coeficiente de variação.

**Tabela 2.2.** Número de juvenis de segundo (J2), terceiro (J3) e fêmeas e número total de *Meloidogyne javanica* por grama de raiz de java e soja cv. Pintado, avaliados entre o 8° e 30° dia após inoculação (DAI) com 3000 ovos do nematoide.

TRAT	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
<b>J2.g<sup>-1</sup></b>												
Soja	3,3 bA	4,0 bA	3,6 aA	3,1 aA	1,5 bA	1,4 bA	3,2 bA	1,7 bA	1,21 bA	2,4 bA	1,7 bA	1,1 bA
Java	44,2 aA	18,2 aB	12,9 aB	6,2 aB	27,7 aA	24,7 aA	12,6 aB	15,1 aB	17,6 aB	10,4 aB	19,6 aA	13,4 aB
CV%	37,18											
<b>J3.g<sup>-1</sup></b>												
Soja	0,7 aA	3,0 aA	2,2 aA	1,8 aA	1,0 aA	2,0 aA	2,1 aA	3,2 aA	1,7 aA	1,6 aA	1,8 bA	2,1 aA
Java	0,0 aC	0,7 bC	0,6 bC	0,0 bC	2,6 aB	3,7 aB	5,3 aB	3,7 aB	3,9 aB	3,6 aB	11,5 aA	3,2 aB
CV%	37,77											
<b>Fêmea.g<sup>-1</sup></b>												
Soja	0,0 aB	0,0 aB	0,0 aB	0,1 aB	0,0 aB	0,4 aB	1,5 aA	0,9 aA	0,7 aA	0,6 aA	1,5 aA	0,7 aA
Java	0,0 aA	0,0 aA	0,0 aA	0,0 aA	0,0 aA	0,0 aA	0,0 bA					
CV%	30,37											
<b>Nematoide total.g<sup>-1</sup></b>												
Soja	4,3 bA	9,6 aA	10,3 aA	7,1 aA	4,1 bA	7,9 bA	12,1 aA	8,2 aA	5,9 bA	6,8 aA	7,4 bA	5,8 bA
Java	44,2 aA	18,9 aB	13,5 aB	6,9 aB	32,6 aA	29,1 aA	18,0 aB	19,5 aB	22,2 aB	14,6 aB	33,6 aA	18,1 aB
CV%	29,02											

Para cada fase de desenvolvimento do nematoide e época de avaliação, médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste t de Bonferroni e Scott-Knott a 5% de probabilidade. Trat. = tratamento. CV = coeficiente de variação.

Para o número total de nematoides (NT), número de nematoides por grama de raiz (NG) e fator de reprodução (FR), não houve interação significativa entre os fatores, no entanto, os mesmos apresentaram diferença estatística para cada fator isoladamente (Tabela 2.3).

Para a variável NT, o fator nível de inóculo e tratamento apresentaram significância, em que a inoculação com 1000 nematoides promoveu maior NT em relação à plantas inoculadas com 700, assim como foi observado menor NT em java em relação a soja (Tabela 2.3).

O FR apresentou diferença significativa apenas entre os tratamentos, em que java reduziu o FR, comparado com a soja. O mesmo comportamento foi observado para o parâmetro NG, o qual os tratamentos diferenciaram entre si, sendo este número menor em raízes de java (Tabela 2.3). Em plantas inoculadas com 700 nematoides, o FR foi de 0,31 e 3,40 para java e soja, respectivamente (Tabela 2.3). Já em plantas inoculadas com 1000 nematoides, o FR para java foi de 0,39 e para soja de 5,52 (Tabela 2.3).

**Tabela 2.3** Número total de nematoides (NT), número de nematoides por grama de raiz (NG) e fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne javanica* em raízes de java e soja, inoculadas com população inicial (PI) de 700 e 1000 espécimes.

TRAT	NT			NG			FR		
	Níveis de inóculos								
	700	1000	Média	700	1000	Média	700	1000	Média
Soja	3401	4524	3963,14a	634	863	748,64a	3,4	4,52	3,96a
Java	318	392	355,35b	93	134	114,07b	0,31	0,39	0,35b
<b>Média</b>	1860,14 B	2458,35 A							
<b>CV (%)</b>	14,16			17,56			11,09		

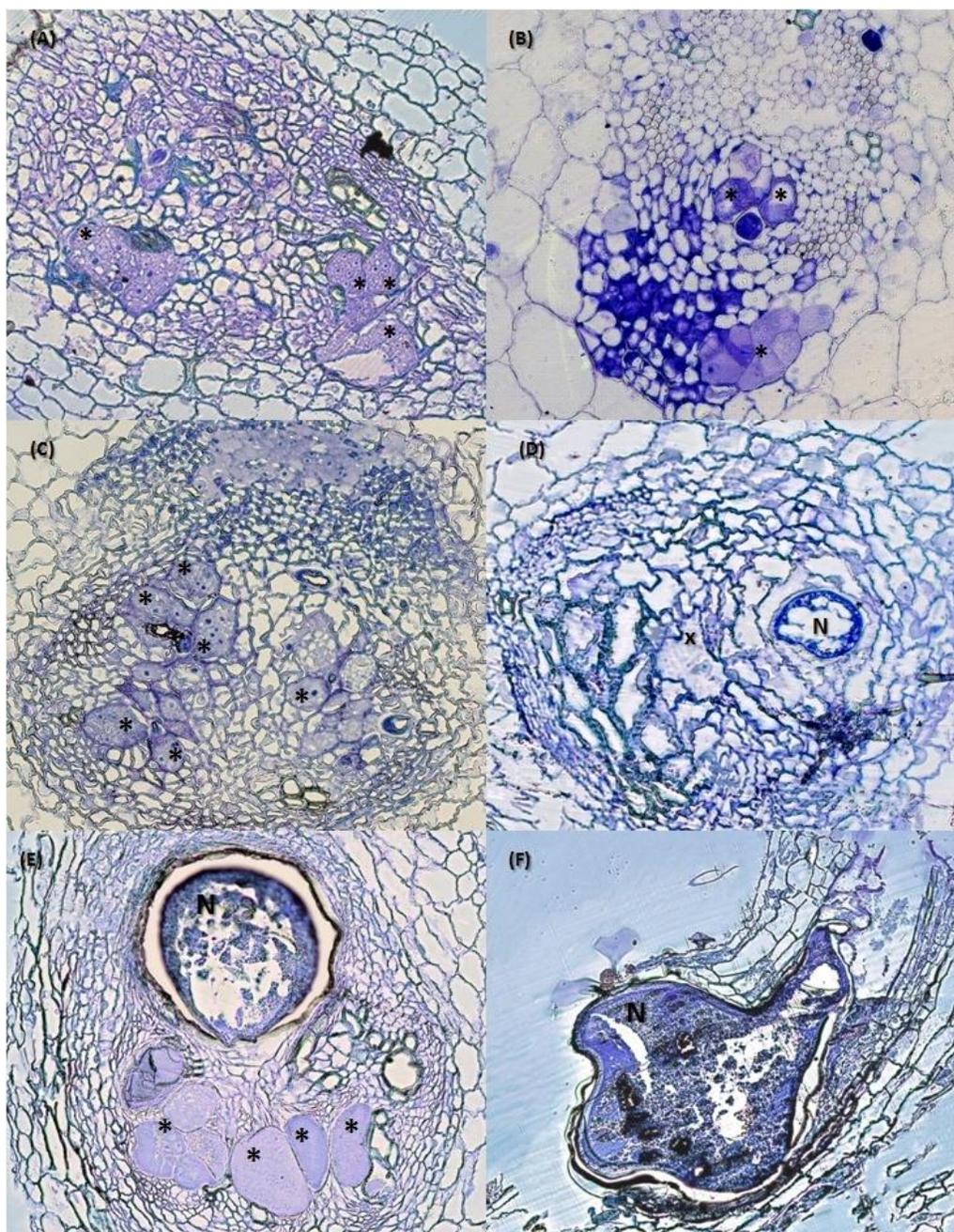
Para cada nível de inóculo, médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste T de Bonferroni a 5% de probabilidade. CV

= Coeficiente de variação.

Em relação ao estudo histopatológico, aos 10 DAI foi possível observar a formação do sítio de alimentação em ambas as plantas. Em soja, constatou-se a formação das células nutridoras granuladas, com até cinco núcleos (Figura 2.1A). Já em raízes de java, observou-se a desorganização celular e hipertrofia das mesmas (Figura 2.1B).

Aos 15 DAI, nas amostras de soja, observou-se a presença do nematoide, bem como a formação normal do sítio de alimentação e células gigantes multinucleadas (Figura 2.1C). Já nas amostras de java, observou-se a presença do nematoide, entretanto, não foi observada a presença do sítio de alimentação, apenas uma leve desorganização celular (Figura 2.1D).

Aos 30 DAI, foi possível observar nas amostras de soja a formação de fêmea adulta, completamente desenvolvida, bem como o sítio de alimentação totalmente formado e estabelecido, com modificações celulares características, incluindo células gigantes multinucleadas, paredes espessas, além de citoplasma denso e pequenos vacúolos (Figura 2.1E), indicando o desenvolvimento normal do nematoide. Já em java, observou-se fêmeas deformadas (Figura 2.1F), provavelmente em decorrência da formação incompleta do sítio de alimentação ou de reação de hipersensibilidade, apesar de não terem sido encontradas evidências desse mecanismo em nenhum dos cortes observados.



**Figura 2.1.** A: sítios de alimentação (células gigantes multinucleadas) formados pelo parasitismo de *M. javanica* em soja aos 10 DAI. B: sítio de alimentação (células gigantes sem núcleo aparente) formados pelo parasitismo de *M. javanica* em java aos 10 DAÍ. C: sítios de alimentação (células gigantes multinucleadas) formados pelo parasitismo de *M. javanica* em soja aos 15 DAI. D: *M. javanica* parasitando raiz de java aos 15 DAI, desorganização celular e sítio de alimentação mal estabelecido. E: Fêmea de *M. javanica* parasitando raiz de soja aos 30 DAI, seis células gigantes granuladas e multinucleadas. F: Fêmea de *M. javanica* deformada em raiz de java aos 30 DAÍ. \*= células gigantes, N= nematoide, x= desorganização celular

## DISCUSSÃO

No presente estudo, observou-se eficiente penetração de *M. javanica* no sistema radicular de java, visto que, em geral, o número de J2 penetrados nesta planta foi igual àquele observado nas raízes de soja. Destaca-se, ainda, o elevado número de nematoide/g de raiz em java que, frequentemente, foi muito superior à soja. Por outro lado, houve atraso no desenvolvimento dos J3 e J4 e, além disso, não houve formação de fêmeas nesta cultura. Assim, uma das hipóteses é de que java seja uma planta antagonista a *M. javanica*. Tais plantas são caracterizadas pelo modo de ação, uma vez que afetam negativamente o desenvolvimento do nematoide no sistema radicular (CHITWOOD, 2002). O modo de ação dessas plantas pode variar de acordo com a espécie, podendo ser caracterizada por repelir o nematoide, devido à produção de compostos alelopáticos, ou permitirem a penetração, mas inibirem o ciclo de vida, por meio de mecanismos de resistência (CHITWOOD, 2002; NYCZEPIR; THOMAS, 2009; ANSELMINI, 2009).

Recentemente, Miamoto et al. (2016) apresentaram o primeiro relato do potencial antagonista da cultura no controle de *M. javanica*, quando observaram que a penetração do nematoide no sistema radicular de java foi superior quando comparada à soja, porém o fator de reprodução (FR) foi menor e semelhante ao observado para crotalária, indicando que o ciclo de vida do nematoide foi afetado negativamente pela cultura.

A reação de java a *M. javanica* é semelhante àquela relatada em outros patossistemas envolvendo plantas consideradas antagonistas, como *Cajanus cajan* L. (Mill) cv. Fava Larga x *Heterodera glycines* Ichinohe (VALLE et al., 1997) e *C. cajan* cv. IAPAR 43 x *M. javanica* (ROSA et al., 2013; MIAMOTO et al., 2016), em que ocorre a penetração do nematoide nas raízes, porém os mesmos não completam o ciclo de vida. Além disso, foi observado que *C. cajan* leva à inativação e à morte os J2 de *M. exigua* Goeldi, devido à produção de substâncias tóxicas ao nematoide (AMARAL et al., 2002). O mesmo observa-se para *C. spectabilis*, em que a planta age como armadilha, atraindo os nematoides para o sistema radicular, mas não permitindo que o parasita se reproduza com eficiência, além de não avançar nos estádios de desenvolvimento (JAEHN; MENDES, 1979; CURTO et al., 2015; MIAMOTO et al., 2016). Desse modo, a planta diminui significativamente a população infestante de nematoides como *Pratylenchus zaei* Graham, *P. brachyurus* Godfrey, *M. javanica*, *M. incognita* e *H. glycines* (WANG et al., 2002;

INOMOTO et al., 2008; OLIVEIRA et al.; 2008; SANTANA et al., 2012; ROSA et al.; 2013; DEBIASI et al., 2016).

*Tagetes* spp. também apresentam ação semelhante, em que o nematoide penetra a raiz, mas não consegue se desenvolver, reduzindo a infestação de *M. incognita* e *M. javanica* (BELCHER; HUSSEY, 1977; HUANG, 1984; HUSSAIN et al., 2011), devido à produção de substância chamada  $\alpha$ -tertienil, com elevado efeito nematicida (BAKKER et al., 1979; DEBPRASAD et al., 2000). Neste caso, além de inibirem o desenvolvimento daqueles nematoides que conseguiram penetrar a raiz da planta hospedeira, há diminuição da eclosão dos ovos, dificultando a infecção do patógeno (FRANZENER et al., 2007; FERREIRA et al., 2013).

Por outro lado, a reação de uma planta resistente pode ser semelhante a uma antagonista, como pode ser observado no estudo envolvendo genótipos de algodão resistentes a *M. incognita*, em que a maioria dos nematoides que conseguiu penetrar as raízes não passou do estágio J2, por não estabelecer sítios de alimentação eficientes (CARNEIRO et al., 2005). Em outro estudo, analisando a reação das cultivares de soja CD 214 RR (suscetível) e CD 203 (resistente) a *M. paranaensis* Carneiro, Carneiro, Abrantes, Santos & Almeida, verificou-se que a resposta de resistência ocorreu após a penetração e desenvolvimento inicial do nematoide, não afetando, neste caso, a formação de J3, mas sim a formação das fêmeas, visto que na cultivar suscetível, fêmeas adultas foram constatadas a partir do 22º DAI, enquanto que, na resistente, poucas fêmeas foram formadas (MORITZ et al., 2008a). Ressalta-se que estes resultados são semelhantes ao observado para java, em que, apesar da penetração e desenvolvimento inicial, não houve a formação de fêmeas adultas.

As observações histopatológicas obtidas na interação de *M. javanica* – java indicaram a ineficiência do sítio de alimentação em nutrir o nematoide, visto que as fêmeas se encontravam atrofiadas. Resultados semelhantes foram observados em aveia branca cv. IPR Afrodite infectada por *M. incognita*, na qual constatou-se, aos 18 DAI, nematoides mal desenvolvidos (MARINI et al., 2016). Os mesmos autores relataram que houve a formação de células gigantes pequenas e mal formadas, mostrando que os espécimes conseguiram induzir a formação dos sítios de alimentação, entretanto, não estabeleceram sua completa diferenciação, interferindo no desenvolvimento do mesmo.

O não estabelecimento do sítio de alimentação pode estar associado com a reação de hipersensibilidade (RH), em que ocorre a morte celular das raízes adjacentes ao local de infecção do patógeno (MOFFETT et al., 2002). A reação de hipersensibilidade foi observada para os patossistemas *M. exigua* e cafeeiro (ANTHONY et al. 2005) e *M. incognita* e algodão (MOTTA et al. 2012), em que a ocorrência de interações incompatíveis entre os nematoides e as plantas levaram à morte celular localizada dos tecidos adjacentes ao sítio de alimentação dos nematoides. Essa reação de defesa da planta pode não limitar a invasão do parasita e a indução do sítio de alimentação, mas limita o crescimento e desenvolvimento do mesmo (GABRIEL; ROLFE 1990; WILLIAMSON; GLEASON, 2003).

No presente trabalho, não foram observadas necroses indicando RH, entretanto, o estímulo para formação e manutenção de células gigantes em java foi diferente da soja e corrobora outros trabalhos, incluindo a interação entre genótipos de algodoeiro resistentes e *M. incognita*, no qual não houve RH, mas formaram-se poucos sítios de alimentação, com células pequenas, aparentemente sem desorganização celular extensiva e sem espessamento secundário das membranas celulares (CARNEIRO et al., 2005). Da mesma forma, no patossistema café cv. Apoatã IAC 2258 e *M. exigua*, foi observado que a resistência não se dá apenas pelo fenômeno da RH, mas por um conjunto de respostas de defesa, constitutivas ou induzíveis após a infecção dos nematoides, que levam à má formação do sítio de alimentação, emigração de J2 e inibição do desenvolvimento e reprodução dos nematoides (SILVA et al. 2013). Assim, uma planta resistente tem os mecanismos caracterizados pela falha no estabelecimento do sítio de alimentação, uma vez que pode ocorrer a formação de número reduzido dessas células nutridoradas, sendo estas de menor tamanho e diâmetro, conseqüentemente, menos eficientes em nutrir o nematoide, prejudicando o desenvolvimento do mesmo (MORITZ et al., 2008b).

Em suma, as plantas resistentes, bem como algumas antagonistas, não impedem a penetração do nematoide, mas comprometem seu desenvolvimento e estes podem morrer sem completar o ciclo de vida (PEDROSA et al., 1996; MOURA et al., 1997), como foi observado no presente estudo.

## CONCLUSÕES

Java é resistente a *M. javanica* e possui potencial antagonista, uma vez que não impede que o mesmo penetre as raízes, mas afeta negativamente o ciclo de vida do mesmo, causando ineficiência no sítio de alimentação do nematoide.

## REFERÊNCIAS

- ABAD, P.; CASTAGNONE-SERENO, P.; ROSSO, M. N.; DE ALMEIDA ENGLER, J.; FAVERY, B. Invasion, feeding and development. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds). **Root-knot Nematodes**. Wallingford, CABI Publishing, 2009, p. 162-181.
- ABAD, P.; GOUZY, J.; AURY, M. J. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. **Nature Biotechnology**, Middle East, v. 26, n. 1, p. 909–915, 2008.
- ABRASEM - Associação Brasileira de Sementes e Mudas. Consolidando o Sistema Sementeiro junto ao Agronegócio Nacional. **Anuário 2006**. Pelotas, 86p. 2006.
- AMARAL, D. R.; OLIVEIRA, D. F.; CAMPOS, V. P.; CARVALHO, D. A. Efeito de alguns extratos vegetais na eclosão, mobilidade, mortalidade e patogenicidade de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 26, n. 1, p. 43-48, 2002.
- ANTHONY, F.; TOPART, P.; MARTINEZ, A.; SILVA, M.; NICOLE M. Hypersensitive-like reaction conferred by de *Mex-1* resistance gene against *Meloidogyne exigua* in coffee. **Plant Pathology**, Nottingham, v. 54, n. 1, p. 476-482, 2005.
- BAKKER, J.; GOMMERS, F.J.; NIEUWENHUIS, I.; WYNBERG, H. Photoactivation of the nematocidal compound alfa-terthienyl from roots marigolds (*Tagetes* species). A possible singlet oxygen role. **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v.254, n.6, p.1841-1844, 1979.
- BELCHER, J.V.; HUSSEY, R.S. Influence of *Tagetes patula* and *Arachis hypogaeae* on *Meloidogyne incognita*. **Plant Disease Reporter**, Saint Paul, v.61, n.1, p.525-528, 1977.
- BONETI, J.I.S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, n.3, p.553, 1981.
- BYRD JÚNIOR, D.W.; KIRPATRICK, J.; BARKER, K.R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, Riverside, v.15, n.1, p.142-143, 1983.

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

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

CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 40, n. 1, p. 221-249, 2002.

COYNE, D. L.; TOKO, M.; ANDRADE, M. *Meloidogyne* spp. and associated galling and damage on cassava in Kenya and Mozambique. **African Plant Protection**, Sanlamer, v. 12, n. 1, p. 35-6. 2006.

CURTO, G.; DALLAVALLE, E.; SANTI, R.; CASADEI, N.; D'AVINO, L.; LAZZERI, L. The potential of *Crotalaria juncea* L. as a summer green manure crop in comparison to Brassicaceae catch crops for management of *Meloidogyne incognita* in the Mediterranean area. **European Journal of Plant Pathology**, Missouri, v. 142, n. 4, p. 829-841, 2015.

DANAHAP, L.S.; WONANG, D.L. Antinematicidal Efficacy of Root Exudates of Some *Crotalaria* Species on *Meloidogyne Incognita* Root-Knot Nematode Kofoid And White Chitwood Isolated from Infected *Lycopersicum esculentum* L. Tomato Plant. **International Journal Of Scientific & Technology Research**, New Delhi, v. 5, n. 3, p.76-84, 2016.

DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.; DIAS, W. P.; RAMOS JUNIOR, E. U.; BALBINOT JUNIOR, A. A. Práticas culturais na entressafra da soja para o controle de *Pratylenchus brachyurus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 10, p. 1720-1728, 2016.

DEBPRASAD, R.; PRASAD, D.; SINGH, R.P.; RAY, D. Chemical examination and antinemic activity of marigold (*Tagetes erecta* L.) flower. **Annals of Plant Protection Sciences**, New Delhi, v. 8, n. 2, p. 212-217, 2000.

FARIA, C. M. D. R.; SALGADO, S. M. L.; CAMPOS, H. D.; RESENDE, M. L. V.; CAMPOS, V. P.; COIMBRA, J. L. Mecanismos de ataque e defesa na interação nematóide-planta. **Revisão Anual de Patologia de Planta**, Passo Fundo, v. 11, n. 1, p. 373-410, 2003.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A Guide for its Bootstrap procedure in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

FERREIRA, I. C. M.; SILVA, G. S.; NASCIMENTO, F. S. Efeito de extratos aquosos de espécies de Asteraceae sobre *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 39, n. 1, p. 40-44, 2013.

FOURIE, H.; MCDONALD, A. H.; LOOTS, G. C. Plant-parasitic nematodes in field crops in South Africa. 6. Soybean. **Nematology**, Lakeland, v. 3, n 1, p. 447-54, 2001.

FRANZENER, G.; MARTINEZ-FRANZENER, A. S.; STANGARLIN, J. R.; FURLANETTO, C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Proteção de tomateiro a *Meloidogyne incognita* pelo extrato aquoso de *Tagetes patula*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 27-36, 2007.

GABRIEL, D. W.; ROLFE, B. G. Working models of specific recognition in plant-microbe interactions. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 28, n. 1, p. 365-391, 1990.

HUANG, S. P. Cropping Effects of Marigolds, Corn, and Okra on Population Levels of *Meloidogyne javanica* and on Carrot Yields. **Journal of Nematology**, Lakeland v. 16, n. 4, p. 396- 398, 1984.

HUSSAIN, M. A.; MUKHTAR, T.; KAYANI, M. Z. Efficacy evaluation of *Azadirachta indica*, *Calotropis procera*, *Datura stramonium* and *Tagetes erecta* against Root-knot nematodes *Meloidogyne incognita*. **Pakistan Journal of Botany**, Special Issue, v. 43, n. 1, p. 197-204, 2011.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v. 57, n. 1, p. 1025-1028, 1973.

INOMOTO, M. M.; ANTEDOMÊNICO, S. R.; SANTOS, V. P.; SILVA, R. A.; ALMEIDA, G. C. Avaliação em casa de vegetação do uso de sorgo, milho e crotalária no manejo de *Meloidogyne javanica*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 2, p. 125-129, 2008.

INOMOTO, M. M.; MOTTA, L. C. C.; BELUTI, B.; MACHADO, A. C. Z. Reação de seis adubos verdes a *Meloidogyne javanica* e *Pratylenchus brachyurus*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 30, n. 1, p. 39-44, 2006.

JAEHN, A.; MENDES, B. V. Avaliação da Penetração e Desenvolvimento de *Meloidogyne incognita* em *Crotalaria spectabilis*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 7, Araxá, 1979. **Resumos...** Rio de Janeiro, IBC, 1979. p. 28-29.

JONES, J. T.; DANCHIN, E. G. J.; GAUR, H. S.; HELDES, J.; JONES, M. G. K.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.; PALOMARES-RIUS, J. E.; WESEMAEL, W. I. M. M. L.; PERRY, R. N. 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, Medford, v. 14, n. 1, p. 946-961, 2013.

MARINI, P. M.; GARBUGLIO, D. D.; DORIGO, O. F.; MACHADO, A. C. Z. Histological characterization of resistance to *Meloidogyne incognita* in *Avena sativa*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2016.

MIAMOTO, A.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; CARDOSO, M. R.; PUERARI, H. H. Penetration and Reproduction of *Meloidogyne javanica* on Leguminous Crops. **Journal of Phytopathology**, Medford, v. 164, n. 11-12, p. 890-895, 2016.

MOENS, M.; PERRY, R. N.; STARR, J. L. *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, UK: CAB International, 1–17. 2009.

MOFFETT, P. G.; FRANHAM, G.; PEART, J.; BAUCOMBE, D. C. Interaction between domains of plant NBS-LRR protein in disease resistance-related cell death. **EMBO Journal**, Oxford, v. 21, n. 1, p.4511-4519, 2002.

MORITZ, M. P.; CARNEIRO, R. G.; SANTIAGO, D. C.; MEDRI, M. E.; CORREA, A.; NAKAMURA, K. C.; PINGONI, E.; GOMES, J. C. Histopatologia Comparada das Raízes de Cultivares Suscetível e Resistente de Soja Inoculadas com *Meloidogyne paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 31, n. 1, p. 41-49, 2008a.

MORITZ, M. P.; CARNEIRO, R. G.; SANTIAGO, D. C.; NAKAMURA, K. C.; PIGNONI, E.; GOMES, J. C. Estudo Comparativo da Penetração e Reprodução de *Meloidogyne paranaensis* em Raízes de Cultivares de Soja Resistente e Suscetível. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 32, n. 1, p. 33-40, 2008b.

MOTTA, F. C.; ALVES, G. C. S.; GIBAND, M.; GOMES, A. C. M. M.; SOUZA, F. R.; MATTOS, V. S.; BARBOSA, V. H. S.; BARROSO, P. A. V.; NICOLE, M.; PEIXOTO, J. R.; ROCHA, M. R.; CARNEIRO, R. M. D. G. New sources of resistance to *Meloidogyne incognita* race 3 in wild cotton accessions and histological characterization of the defence mechanisms. **Plant Pathology**, Palo Alto, v. 62, n. 1, p. 1173-1183, 2012.

MOURA, R. M. O Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte II. In: LUZ, W. C.; FERNANDES, J. M.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo: RAPP, 1997. v. 5, cap. 8, p. 281-315.

OHARA, A.; DAIMON, H.; MOMOTA, Y.; CHIN, D.P.; MII, M. Plant regeneration from *Crotalaria spectabilis* hairy roots which showed inhibited growth of root-knot nematodes (*Meloidogyne hapla* and *M. incognita*) *in vitro*. **Plant Biotechnology**, Medford, v. 29, n. 5, p. 425-430, 2012.

OLIVEIRA, F. S.; ROCHA, M. R.; TEIXEIRA, R. A.; FALEIRO, V. O.; SOARES, R. A. B. Efeito de sistemas de cultivo no manejo de populações de *Pratylenchus* spp. na cultura da cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 117-125, 2008.

OOSTENBRINK, R. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. **Meded Land-bouwhogeschool**, New York, v. 66, n. 4, p. 46, 1966.

PEDROSA, E. M. R.; HUSSEY, R. S.; BOERMA, H. R. Cellular responses of resistant and susceptible soybean genotypes infected with *Meloidogyne arenaria* races 1 and 2. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 28, n. 2, p. 225 – 232. 1996.

PERGARD, A.; BRIZZARD, G.; FAZARI, A.; SOUCAZE, O.; ABAD, P.; DIJANCAPORALINO, C. Histological species related to phenolics accumulation in *Capsicum annuum*. **Phytopathology**, Lancaster, v. 95, p.158-165, 2005.

RIBEIRO, N. R. Avaliação da resistência de genótipos de milho, sorgo e milheto a *Meloidogyne javanica* e a *M. incognita* raça 3. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 3, p. 102-103, 2002.

ROSA, J. M. O.; WESTERICH, J.N.; WILCKEN, S.R.S. Reprodução de *Meloidogyne javanica* em olerícolas e em plantas utilizadas na adubação verde. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, n. 2, p. 133-141, 2013.

SANO, Z.; NAKASONO, K. Histological responses of three leguminous enemy plants to the penetration and development of *Meloidogyne incognita*. **Japanese Journal of Nematology**, Tokyo, v.16, n.12, p.48-55, 1986.

SANTANA, S. M.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; BIELA, F.; CUNHA, T. P. L.; CHIAMOLERA, F. M.; PUERARI, H. H.; FONTANA, L. F. Manejo de *Pratylenchus zae* por plantas antagonistas em solos naturalmente infestados de áreas de cultivo de cana-de-açúcar. **Nematropica**, Auburn, v. 42, n. 1, p. 63-71, 2012.

SILVA, A. H.; ALVES, D. S.; SILVEIRA, H. R. O.; ALVARENGA, I. C. A.; SOUZA, M. F.; FERNANDES, L. F. Aplicação de corretivos e fertilizantes para recuperação de áreas degradadas utilizando *Macrotyloma axillare* como cobertura vegetal no norte de Minas Gerais. **Caminhos de Geografia**, Uberlândia v. 8, n. 22, p. 105-115, 2007.

SILVA, G. S.; FERRAZ, S.; SANTOS, J. M. Histopatologia de raízes de *Crotalaria* parasitadas por *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 15, n. 1, p. 46-48, 1990.

SILVA, R. V.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERREIRA, P. S.; FERREIRA, A. O.; RODRIGUES, F. A. Defense responses to *Meloidogyne exigua* in resistant coffee cultivar and non-host plant. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, n. 1, p. 114-121, 2013.

VALDEZ, R. B. Some studies on nematodes of forage and pasture crop in the Phillipines. **Journal of Crop Science**, Phillipines, v. 1, n. 3, p.167-172, 1976.

VALLE, L. A. C.; FERRAZ, S.; TEIXEIRA, D. A. Estímulo à eclosão de juvenis, penetração e desenvolvimento de *Heterodera glycines* em raízes de mucuna preta (*Mucuna aterrima*) e feijão guandu (*Cajanus cajan*). **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 21, n. 1, p. 67-83, 1997.

WANDERLEY, M. J. A.; SANTOS, J. M. Resistance of sweet potato cultivars to *Meloidogyne incognita*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 4, p. 437-440, 2004.

WANG, K. H.; SIPES, B. S.; SCHMITT, D. P. *Crotalaria* as a cover crop for nematode management. **Nematropica**, Auburn, v. 32, n. 2, p. 35-57, 2002.

WATANABE, N.; LAM, E. Recent advance in the study of caspase-like proteases and Bax inhibitor-1 in plants: their possible roles as regulator of programmed cell death. **Molecular Plant Pathology**, Texas, v. 5, n. 1, p. 65-70, 2004.

WHITEHEAD, A. G. The distribution of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in tropical Africa. **Nematologica**, Boston, v. 15, n. 1, p. 315–33, 1969.

WILLIAMSON, V. M.; GLEASON, C. A. Plant-nematode interactions. **Current Opinion in Plant Biology**, Medford, v. 6, n. 4, p. 327-33, 2003.

WILLIAMSON, V. M.; HUSSEY, R. S. Nematode pathogenesis and resistance in plants. **The Plant Cell**, v. 8, n. 1, p. 1735-1745, 1996.