



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE  
PERNAMBUCO**

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM FITOPATOLOGIA**

## **Dissertação de Mestrado**

# **Caracterização enzimática e fisiológica de *Setaria viridis* e *Portulaca oleracea* em relação ao parasitismo de *Meloidogyne* spp.**

**Mariana Ferreira de Lima David**

**Recife – PE**

**2018**

**MARIANA FERREIRA DE LIMA DAVID**

**CARACTERIZAÇÃO ENZIMÁTICA E FISIOLÓGICA DE *Setaria viridis* E  
*Portulaca oleracea* EM RELAÇÃO AO PARASITISMO DE *Meloidogyne* spp.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

**COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:**

Orientadora: Profa. Dra. Lilian Margarete Paes Guimarães

Coorientadores: Prof. Dr. Manoel Teixeira Souza Junior e Profa. Dra. Elvira Maria Régis Pedrosa

**RECIFE – PE**

**JULHO – 2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

D249c David, Mariana Ferreira de Lima.  
Caracterização enzimática e fisiológica de *Setaria viridis* e *Portulaca oleracea* em relação ao parasitismo de *Meloidogyne* spp. / Mariana Ferreira de Lima David . – Recife, 2018.  
83 f.: il.

Orientadora: Lilian Margarete Paes Guimarães.  
Coorientadores: Manoel Teixeira Souza Junior, Elvira Maria Régis Pedrosa.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife, BR-PE, 2018.  
Inclui referências e anexos.

1. *Meloidogyne incognita* 2. *M. javanica* 3. *M. enterolobii* 4. Planta modelo  
5. Plantas antagonistas I. Guimarães, Lilian Margarete Paes, orient. II. Souza Junior, Manoel Teixeira, coorient. III. Pedrosa, Elvira Maria Régis, coorient.  
III. Título

CDD 632

**CARACTERIZAÇÃO ENZIMÁTICA E FISIOLÓGICA DE *Setaria viridis* E  
*Portulaca oleracea* EM RELAÇÃO AO PARASITISMO DE *Meloidogyne* spp.**

**MARIANA FERREIRA DE LIMA DAVID**

Dissertação \_\_\_\_\_ e \_\_\_\_\_ pela Banca Examinadora em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**ORIENTADORA:**

---

Profa. Dra. Lilian Margarete Paes Guimarães

**EXAMINADORES:**

---

---

---

**RECIFE – PE**

**JULHO – 2018**

Aos meus pais Kátia David e Darlan  
David pelo amor e apoio oferecidos em  
todos os momentos.

**DEDICO!**

Aos meus familiares, amigos e todos que  
de alguma forma contribuíram para o  
desenvolvimento deste trabalho.

**OFEREÇO!**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por me conceder a vida e sua divina proteção, por me dar saúde e força para superar as dificuldades, sempre renovando minha fé.

Aos meus pais Kátia e Darlan, e aos demais familiares, pelo amor, paciência, incentivo, apoio e dedicação.

Ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal Rural de Pernambuco, seu corpo docente, direção e administração.

Ao CNPq pela concessão da Bolsa de Pesquisa.

À Embrapa Agroenergia pela disponibilização do espaço, equipamentos, entre outros, que contribuíram substancialmente para o desenvolvimento deste trabalho.

À minha orientadora Profa. Dra. Lilian Margarete Paes Guimarães, muito obrigada pela contribuição dada para minha formação profissional e pessoal.

Aos meus coorientadores Prof. Dr. Manoel Teixeira Souza Júnior (Embrapa Agroenergia) e Profa. Dra. Elvira Maria Régis Pedrosa, por todo apoio e ensinamentos que a mim foram dados contribuindo para minha formação profissional durante essa jornada.

Ao Dr. José Mauro da Cunha e Castro pela disponibilização de uma das populações utilizadas no experimento, muito obrigada Zé.

Ao Dr. Carlos Antônio Ferreira de Sousa, por todo ensinamento sobre fenotipagem e fisiologia de plantas.

A todos meus queridos amigos do Laboratório de Fitonematologia (LAFNEMA), em especial: Carmem Abade, Rezanio Martins, Alessandro Silva, Maurício, Sandra Maranhão, Carolina França, Ana Karina e Diego Huggins.

A Dra. Thais Vicente pela sua imensa ajuda em todos os momentos dessa jornada.

A todos os analistas da Embrapa Agroenergia, em especial André Leão.

A todos os colaboradores da Embrapa Agroenergia que conheci, em especial: meus queridos amigos Vivianny Silva, Elias Silva, Tallyta Teixeira, Samira Braga, Carolina Cereijo, Raphael Casari.

A minha “família” brasiliense que conquistei durante os meses que vivi no DF: Dona Alcina, Zizi, Brenda Isadora, Do Carmo e as irmãs do pensionato, principalmente Irmã Dita, Irmã Faustina, Irmã Sandra e Irmã Adélia (obrigada mesmo, por tudo!).

A todos colaboradores do SIL e da limpeza da Embrapa Agroenergia.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

CAPITULO I.....	11
INTRODUÇÃO GERAL .....	12
1. O gênero <i>Meloidogyne</i> Goeldi .....	12
2. Manejo dos nematoides das galhas .....	13
3. <i>Setaria viridis</i> (L.) P. Beauv. (proposta como possível planta modelo) .....	15
5. Interações entre <i>Meloidogyne</i> spp., <i>S. viridis</i> e <i>P. oleracea</i> .....	16
6. Atividades enzimáticas de defesas das plantas em resposta ao parasitismo de <i>Meloidogyne</i> spp. ....	17
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	19
CAPITULO II.....	26
Caracterização enzimática e fisiológica de <i>Setaria viridis</i> em resposta ao parasitismo de <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>M. javanica</i> e <i>M. enterolobii</i> .....	26
CAPITULO III .....	57
Respostas enzimáticas e fisiológicas de <i>Portulaca oleracea</i> em relação ao parasitismo de <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>M. javanica</i> e <i>M. enterolobii</i> .....	58
CAPITULO IV.....	83

## RESUMO GERAL

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* são causadores de perdas nas produções sendo necessárias medidas de manejo como, uso de variedades resistentes e o uso de plantas antagonistas. As plantas resistentes possuem genes que conferem resistência ao parasitismo e as antagonistas atuam através da liberação de compostos tóxicos derivados da síntese de metabólitos secundários. *Setaria viridis* é uma gramínea que produz principalmente compostos fenólicos que são sintetizados através do metabolismo secundário. *Potulaca oleracea* é uma planta rica em antioxidantes como, flavonoides, alcaloides, terpenoides,  $\alpha$ -tocoferol, entre outros. Estudos anteriores demonstram que *S. viridis* e *P. oleracea* são hospedeiras de *Meloidogyne* spp. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o parasitismo de *Meloidogyne* spp. assim como, avaliar as respostas enzimáticas obtidas diante do parasitismo em *S. viridis* (Estudo 1) visando seu uso como possível planta modelo nos estudos de resistência aos nematoides das galhas e em *P. oleracea* (Estudo 2). No Estudo 1, as avaliações foram realizadas aos 10, 20 e 30 dias após inoculação (DAI) com 0, 10.000 e 20.000 ovos e juvenis de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii* e, fundamentaram-se nas análises biométricas, desenvolvimento e reprodução das espécies de nematoides e a atividade de enzimas antioxidantes. Foi possível observar diferença significativa quanto às espécies inoculadas influenciando o peso fresco da parte aérea e o peso fresco do sistema radicular. *S. viridis* se mostrou imune (FR=0) as espécies de *Meloidogyne* inoculadas. Houve diferença significativa ( $P \leq 0,01$ ) quanto aos tratamentos na atividade da fenilalanina amônia liase (PAL). No Estudo 2, as densidades de inóculo de 0 e 20.000 ovos e juvenis de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii* foram utilizadas e, as avaliações foram realizadas aos 10, 20 e 30 DAI e consistiram no desenvolvimento do hospedeiro, desenvolvimento e reprodução das espécies de nematoides e a atividade de enzimas antioxidantes. Foi possível observar diferença significativa quanto às espécies inoculadas influenciando o peso fresco do sistema radicular e a porcentagem de água nas plantas. *P. oleracea* se comportou como planta imune (FR=0) as espécies de *Meloidogyne* inoculadas. Os tratamentos foram significativos para a atividade da PAL ( $P \leq 0,01$ ). O comportamento de *S. viridis* a desqualifica como planta modelo na busca genes de resistência no controle dos nematoides das galhas. *S. viridis* e *P. oleracea* produzem compostos fenólicos e são indicativas de possíveis plantas antagonistas.

Palavras-chave: *M. incognita*, *M. javanica*, *M. enterolobii*, planta modelo, plantas antagonistas.



## GENERAL ABSTRACT

Nematodes from the genus *Meloidogyne* inflict yield suppression of major crops; thereby management strategies are necessary, such as the use of resistant crop varieties and antagonist plants. Resistant plants possess genes that confer resistance to parasitism and the antagonists act through the release of toxic compounds derived from the synthesis of secondary metabolites. *Setaria viridis* is a graminaceous plant which mainly produces phenolic compounds synthesized through secondary metabolism; while *Portulaca oleracea* is a plant rich in antioxidants like flavonoids, alkaloids,  $\alpha$ -tocopherol, among others. Previous research have demonstrated that *S. viridis* and *P. oleracea* are hosts to *Meloidogyne* spp. Thus, the objective of the present study was to evaluate the parasitism of *Meloidogyne* spp. as well as to evaluate the enzymatic responses obtained from parasitism in *S. viridis* (Study 1), aiming at their use as a possible model plant in resistance studies to root-knot nematodes and *P. oleracea* (Study 2). On the Study 1, the evaluations were made at 10, 20 and 30 days after inoculation (DAI) of 0, 10,000 and 20,000 eggs and juveniles of *M. incognita*, *M. javanica* and *M. enterolobii*, and were based on biometrical, development and reproduction analyses of the different nematode species and antioxidant enzymes activity. It was noted a significant difference regarding the nematode species on the shoot and roots fresh weight. *S. viridis* was considered immune (FR=0) to the *Meloidogyne* species used. There was a significant difference ( $P \leq 0.01$ ) of the treatments on the activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL). On Study 2, inoculum densities of 0 and 20,000 eggs and juveniles of *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii* were used and the evaluations were carried out at 10, 20 and 30 DAI and consisted of host development, nematode species reproduction and antioxidant enzymes activity. A significant difference was observed for the root system fresh weight and plant water content in relation to the species used. The treatments presented a significant effect on the root fresh weight. *P. oleracea* was also considered immune (FR=0) to the *Meloidogyne* species studied. Treatments were significant to the PAL activity ( $P \leq 0.01$ ). The behavior of *S. viridis* disqualifies it as a model plant in the search for resistance genes in the control of root-knot nematodes. *S. viridis* and *P. oleracea* produce phenolic compounds and are indicative of possible antagonistic plants.

Keywords : *M. incognita*, *M. javanica*, *M. enterolobii*, model plant, antagonist plants.

**CAPITULO I**



## INTRODUÇÃO GERAL

### 1. O gênero *Meloidogyne* Goeldi

O gênero *Meloidogyne* Goeldi foi descrito pela primeira vez após problemas em cafezais no Brasil no ano de 1887. De acordo com a classificação de De Ley e Blaxter (2002), são animais pertencentes ao filo Nematoda, classe Chromadorea, subclasse Chromadoria, ordem Rhabditida, subordem Tylenchina, superfamília Tylenchoidea, família Hoplolaimidae e subfamília Meloidogynae.

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* também são conhecidos como nematoides das galhas e possuem distribuição cosmopolita estando entre os patógenos de plantas mais prejudiciais em todo mundo (TRUDGILL; BLOK, 2001). Esses patógenos causam alterações no sistema radicular das plantas hospedeiras, além de provocarem a redução da absorção e do transporte de água e nutrientes para a planta em consequência da formação das galhas, comprometendo ou, em casos extremos, causando a morte das plantas (SOARES; SANTOS, 2004).

O ciclo de vida dos nematoides das galhas possui diferentes fases, se inicia com a fase de ovo, possui quatro estádios juvenis e por último, a fase adulta diferenciando machos de fêmeas. Ao completar a embriogênese, o juvenil de primeiro estágio ( $J_1$ ) sofre a primeira ecdise no interior do ovo e eclode como juvenil de segundo estágio ( $J_2$ ), sendo esse estágio conhecido como infectivo. Ao penetrarem na zona de alongamento das raízes, os  $J_2$  migram pelos espaços intercelulares na região do córtex até alcançarem o meristema e então, estabelecerem o local para formação do sítio de alimentação, também conhecidas como células gigantes (CASTAGNONE-SERENO et al., 2013).

Para a formação das células gigantes, as células do córtex sofrem hiperplasia e hipertrofia, a raiz engrossa formando um tumor denominado galha. Com a formação das células gigantes, ocorre a obstrução física dos vasos condutores que resulta em sintomas de murcha, deficiência nutricional e raquitismo. Após a indução do sítio de alimentação, o nematoide sofre mais três ecdises, passando para juvenil de terceiro estágio ( $J_3$ ) e juvenil de quarto estágio ( $J_4$ ) ambos sem a presença do estilete bucal e com esôfago incompleto, e por fim a formação do adulto com o esôfago tilencoide já regenerado e presença do estomatoestilete (DAVIS; HUSSEY; BAUM, 2004).

Essas espécies de nematoides estão entre as mais importantes para a agricultura com mais de 100 espécies já descritas e tendo apenas quatro espécies mais estudadas

por serem conhecidas então como espécies de máxima relevância nas culturas, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood (1949), *M. incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood (1949), *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood (1949) e *M. hapla* Chitwood (1949), (KARSSSEN, 2002; PERRY; MOENS; STAR, 2009; WESEMAEL; VIAENE; MOENS, 2011). Também pode ser citada como causadora de problemas para algumas culturas a espécie *M. enterolobi* Yang e Eisenback (1983) (CASTAGNONE-SERENO et al., 2013).

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* são polípagos e causam danos em mais de 3.000 espécies vegetais, compreendendo frutícolas, ornamentais, olerícolas, entre outras (BITENCOURT; SILVA, 2010; HUNT; HANDOO, 2009; TRUDGILL; BLOK, 2001). As reduções na produção ocasionadas pelos nematoides das galhas podem variar de 20 a 100%, sendo representadas pela diminuição da quantidade e qualidade do produto colhido (PINHEIRO et al., 2010; SIKORA; FERNANDEZ, 2005).

As quedas na produtividade e perdas econômicas resultantes do parasitismo dos nematoides das galhas dependem dos fatores abióticos e bióticos, dentre eles, condição ambiental no local da implantação do cultivo, espécie do nematoide, interação entre espécie-hospedeira envolvida, tipo de solo, métodos de manejo cultural, entre outros (SIKORA; FERNANDEZ, 2005). Diante dessa problemática são necessárias medidas de controle a fim de evitar as reduções nas produções e por consequência as perdas econômicas geradas.

## **2. Manejo dos nematoides das galhas**

Os fitonematoides são habitantes naturais do solo e também organismos que atacam, em sua grande maioria, as partes subterrâneas das plantas, logo, é praticamente impossível erradicar esses patógenos das áreas de cultivo (SILVA, 2011; STIRLING, 1991).

A adoção de medidas de manejo promove a redução da população de fitonematoides e tem como finalidade evitar perdas futuras. São citadas como medidas de manejo para os nematoides das galhas algumas ações baseadas no princípio da exclusão, a destruição de restos culturais, incorporação de matéria orgânica no solo, áreas com ausência de hospedeiros, fazer uso do controle biológico, realização de

rotação de culturas, uso de culturas armadilhas, uso de variedades resistentes e uso de plantas antagonistas (SILVA, 2011).

Atualmente, o uso de plantas resistentes é uma maneira bastante aconselhável visando à redução populacional dos fitonematoides de grande importância econômica (FERRAZ; FREITAS, 2004), com isso, os organismos modelos estão sendo utilizados para uma melhor compreensão dos processos genéticos justificando seu uso através dos princípios biológicos e os genes que os codificam conservados durante a evolução (BORÉM; VIEIRA, 2005). De acordo com Delatorre e Silva (2008), um organismo modelo possui características ideais como, pequeno porte, curto tempo de geração, acessibilidade, fácil manipulação, pequeno genoma, ampla conservação de mecanismos e importância econômica potencial. Além da possibilidade de transformação diante do uso de técnicas genéticas (MEISSNER et al., 1997; MEINKE et al., 1998).

Além do uso das plantas resistentes, a rotação de culturas, ou até mesmo, o plantio em consórcio com plantas antagonistas já foram evidenciados como bons métodos de controle de fitonematoides. As plantas antagonistas mais estudadas, devido às suas propriedades, são pertencentes às famílias Asteraceae, Fabaceae (leguminosas) e Poaceae (gramíneas) (SILVA, 2011). Segundo Ferraz e Freitas (2004), as plantas antagonistas podem ser utilizadas em rotação de culturas ou até mesmo intercaladas em consórcio com a cultura principal.

Os modos de ação das plantas antagonistas envolvem diferentes mecanismos, a produção de diferentes compostos tóxicos liberados no solo ou atraem os nematoides para as raízes e matam-os (FERRAZ; BROWN, 2016). Esses mecanismos demonstram que as plantas antagonistas são mais evoluídas quanto as suas ferramentas protetoras tendo em vista que, previnem a atração, penetração, migração, formação dos sítios de alimentação, nutrição, reprodução ou até mesmo sobrevivência dos nematoides (FRAGOSO et al., 2007).

A origem dos compostos tóxicos que são liberados no solo para a redução da densidade populacional dos fitonematoides ainda é discutida, embora alguns pesquisadores acreditem que sejam derivados da síntese de metabólitos secundários. Os quais possuem composições químicas diversificadas e de origem não proteica, agrupados como alcaloides, terpenos, taninos, flavonoides e glicosídeos (FRAGOSO et al., 2007; HALL, 2006). Logo, são necessários maiores estudos acerca da relação planta antagonista e fitonematoides.

### 3. *Setaria viridis* (L.) P. Beauv.

Segundo APG IV (2016), *Setaria viridis* (L.) P. Beauv. é uma planta pertencente ao sub-reino Tracheobionta, superdivisão Spermatophyta, divisão Magnoliophyta, classe Liliopsida, subclasse Commelinidae, ordem Cyperales e família Poaceae. Historicamente é uma planta nativa dos continentes Europeu e Asiático, sendo normalmente detectada em regiões temperadas e subtropicais de todo o mundo (DEFELICE, 2002; HOLM et al. 1991). É comum ser encontrada em um intervalo de latitude de 45°S a 55°N, podendo também ocorrer em regiões tropicais, exceto em altas altitudes.

Considera-se como uma gramínea anual adaptada a vários habitat, como no cultivo pastagens, áreas com campos de pousio, gramados, jardins, calçadas, estradas, ferrovias, entre outros (DEFELICE, 2002; DOUGLAS et al., 1985). Na Europa, Ásia, América do Norte, América do Sul, Austrália e na região do Norte da África é considerada como planta invasora comum (HOLM et al., 1991).

Características em *S. viridis* são favoráveis e justificam seu emprego como planta modelo no estudo visando a busca de genes de resistência, dentre elas, apresenta metabolismo C<sub>4</sub>, ciclo de vida curto (60 dias), mecanismo de autofecundação, pequena estatura (10-15 cm) e alta produção de sementes (aproximadamente 13 mil sementes). Além disso, Brutnell e colaboradores (2010) já estabeleceram um sistema de transformação estável de através de *Rhizobium radiobacter* (sin. *Agrobacterium tumefaciens*). Quanto aos seus constituintes químicos, poucos estudos são relatados e apenas duas referências abordam sobre o isolamento de metabólitos secundários dessa espécie revelando que *S. viridis* contém principalmente compostos fenólicos (FAN et al., 2014).

### 4. *Portulaca oleracea* L.

*Portulaca oleracea* L. é uma planta pertencente ao sub-reino Tracheobionta, superdivisão Spermatophyta, divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, subclasse Caryophyllidae, ordem Caryophyllale e família Portulacaceae (APG IV, 2016). No Brasil, é vulgarmente conhecida como beldroega-comum.

Sua origem não é certa, no entanto a existência é relatada a cerca de 4.000 anos atrás também sendo relatada como vegetal muito usado durante o Império Romano

(UDDIN, et al., 2014). É considerada como uma herbácea anual com distribuição cosmopolita (DANIN; REYES-BETANCORT, 2006).

A beldroega desenvolve-se bem em jardins, campos de plantio, pomares, estradas, locais perturbados, entre outros. Observa-se que é uma planta facilmente adaptada a diversas condições como, seca, salinidade e solos com deficiência nutricional (UDDIN et al., 2012; UDDIN et al., 2014).

É uma planta dicotiledônea com metabolismo transitório entre C<sub>4</sub>-CAM apresentando características morfológicas como, pequeno porte (até 30 cm), ciclo de vida curto (80 dias), autofecundação e alta produção de sementes (aproximadamente 6.000 sementes) (UDDIN, et al., 2014; FONTES et al., 2013). Estudos quanto a sua estrutura química evidenciaram que a beldroega é uma planta rica em antioxidantes como, flavonoides, alcaloides, terpenoides,  $\alpha$ -tocoferol, esteróis, além de ser rica em polissacarídeos, ácidos graxos, proteínas e minerais (UDDIN, et al., 2014; ZHOU et al., 2015).

##### **5. Interações entre *Meloidogyne* spp., *S. viridis* e *P. oleracea***

O baixo valor econômico de *S. viridis* e *P. oleracea* está por muitas vezes atrelado ao fato de serem consideradas como plantas invasoras, medicinais ou condimentares. Fato que contribui para os poucos estudos sobre estas plantas como hospedeiras, em especial, dos nematoides do gênero *Meloidogyne*.

Estudos demonstram que *S. viridis* já foi assinalada anteriormente como hospedeira de *M. chitwoodi* em estudos na Colômbia (O'BANNON; SANTO; NYCZEPIR, 1982), *M. arenaria* e *M. incognita* em estudos nos campos de fumo na Carolina do Sul – Estados Unidos (TEDFORD; FORTNUM, 1988), *M. incognita* em estudos de casa de vegetação no Canadá (DAVIDSON; TOWNSHEND, 1967) e *M. incognita* em estudos na Argélia (SELLAMI et al., 1999).

Em estudos sobre a interação entre *P. oleracea* e *Meloidogyne* spp. já obtiveram registros desta planta como hospedeira de *M. arenaria* e *M. incognita* (TEDFORD; FORTNUM, 1988) na Carolina do Sul, *M. arenaria*, *M. incognita*, *M. enterolobii*, *M. javanicana* Flórida (BRITO et al., 2008), e *M. hapla* (BELAIR; BENOIT, 1996) na América do Norte, *M. incognita* em Omã na Península Arábica (MANI; HINAI, 1996), *M. incognita* e *M. javanica* em estudos na Argélia (SELLAMI et al., 1999), *M. javanica* na Austrália (WALKER; COBON; NOBBS, 2002). Na América do Sul já foi registrada

como hospedeira de *M. incognita* em áreas de café no Estado de São Paulo – Brasil (LORDELLO et al., 1975).

## **6. Atividades enzimáticas de defesas das plantas em resposta ao parasitismo de *Meloidogyne* spp.**

As formas de estresses sejam bióticas ou abióticas estimulam diferentes respostas nas plantas desde alterações na expressão gênica e metabolismo celular ou até mesmo em variações na taxa de crescimento e produção de biomassa (SILVA, 2017). Diante da resposta hipersensitiva (HR) durante a relação parasitária ocorre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) que são consideradas como as principais respostas bioquímicas ao estresse (NGUYEN et al., 2009). As EROs que ocorrem no metabolismo celular podem ser o ânion superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxila (OH), acarretando em danos celulares e até mesmo podendo ocasionar a morte das plantas.

A fim de evitar maiores danos nos tecidos do hospedeiro, as plantas possuem um conjunto de enzimas antioxidantes quem atuam como sistema de defesa impedindo a ação tóxica das EROs, são elas: dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), peroxidase do ascorbato (APX), fenilalanina amônia liase (PAL), entre outras (BARBOSA et al., 2014; COSTA et al., 2014). Essas enzimas participam mantendo os níveis de radicais livres reduzidos.

A dismutase do superóxido (SOD – EC 1.15.1.1) no processo de proteção da planta contra o efeito tóxico das EROs é considerada como a primeira linha de defesa (GILL; TUTEJJA, 2010). A SOD age catalisando a dismutação do radical superóxido em  $H_2O_2$  e  $O_2$ , sendo o peróxido de hidrogênio menos reativo e pode ser degradado por outras enzimas (CARNEIRO et al., 2011).

A catalase (CAT - EC 1.11.1.6) age quebrando o peróxido de hidrogênio em água e  $O_2$  (CARNEIRO et al., 2011). Pode ser encontrada no citosol, peroxissomos, cloroplastos e mitocôndria, fundamental na prevenção de danos celulares oxidativos nos vegetais (FERNANDEZ-GARCIA et al., 2010; FOYER; NOCTOR, 2009).

A peroxidase do ascorbato (APX – EC 1.11.1.11) engloba izoenzimas importantes no processo de detoxificação das EROs nas plantas e age quebrando o peróxido de hidrogênio em água e  $O_2$  (CARNEIRO et al., 2011; GUZZO; HAKAKAVA, 2007). Estresses como seca, salinidade, alta e baixas temperaturas,



intensidade luminosa e ataque de patógenos têm sido estudadas e mostram a alteração dessas enzimas.

A fenilalanina amônia liase (PAL – E.C 4.3.1.5) é conhecida como enzima chave do metabolismo vegetal participando da biossíntese de fenilpropanoides em que, a atuação da fenilalanina catalisa a reação de conversão de L-fenilalanina em amônia e ácido *trans*-cinâmico (HERRMANN; WEAVER, 1999). O ácido *trans*-cinâmico pode ser incorporado em diferentes compostos para a formação de ésteres, coumarinas, flavonoides e ligninas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008). A PAL desempenha importante fator na resistência de plantas aos nematoides das galhas como visto em trabalhos com plantas da família Fabaceae e Solanaceae. Logo, o objetivo do presente estudo foi avaliar o parasitismo de *Meloidogyne* spp. assim como, avaliar as respostas enzimáticas obtidas diante do parasitismo em *Setaria viridis* visando seu uso como possível planta modelo nos estudos de resistência aos nematoides das galhas e em *Portulaca oleracea*.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP (APG). An update of the Angiosperm Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 181, p. 1-20, 2016.

BAKKER, J. Durability of resistance against potato cyst nematodes. **Euphytica**, Wageningen, v. 124, p. 157-162, 2002.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, p. 453-460, 2014.

BELAIR, G.; BENOIT, D. L. Host susceptibility of 32 common weeds to *Meloidogyne hapla* in organic soils of southwestern Quebec. **Journal of Nematology**, São Paulo, v. 28, p. 643-647, 1996.

BITENCOURT, N. V.; SILVA, G. S. Reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em olerícolas. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 34, p. 181-183, 2010.

BORÉM, A.; VIEIRA, M. L. C. **Glossário de Biotecnologia**. Viçosa: Folha de Viçosa, 2005, 183p.

BRITO, J. A.; KAUR, R.; CETINTAS, R.; STANLEY, J. D.; MENDES, M. L.; MCAVOY, E. J.; POWERS, T. O.; DICKSON, D. W. Identification and characterization of *Meloidogyne* spp. infecting horticultural and agronomic crops, and weeds in Florida. **Nematology**, São Paulo, v. 10, p. 757-766, 2008.

BRUTNELL T. P.; WANG L.; SWARTWOOD K.; GOLDSCHMIDT A.; JACKSON D.; ZHU X. G.; KELLOGG, E.; Van ECK, J. *Setaria viridis*: a model for C4 photosynthesis. **The Plant Cell**, Rockville, v.22, p.2537-2544, 2010.

CARNEIRO, M. M. L. C.; DEUNER, S.; OLIVEIRA, P. V.; TEIXEIRA, S. B.; SOUSA, C. P.; BACARIN, M. A.; MORAES, D. M. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, p. 752-761, 2011.

CASTAGNONE-SERENO, P. Genetic variability of nematodes: a threat to the durability of plant resistance genes?. **Euphytica**, Wageningen, v. 124, p. 193-199, 2002.

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, p. 10.1-10.18, 2013.

COSTA, F. P.; GOMES, M. A. C.; BIZZO, A. L. T.; VITÓRIA, A. P. Ação da catalase na tolerância de plantas de *Eichhornia crassipes* a  $Cr^{+3}$ . In: CONGRESSO FLUMINENSE DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA: O CAMINHO PARA INOVAÇÃO, 6, 2014, Campos dos Goitacases. **Anais...** Campos de Goitacases: UENF, 2014.

DANIN, A.; REYES-BETANCORT, J. A. The status of *Portulaca oleracea* in Tenerife, the Canary Islands. **Lagascalia**, Sevilla, v. 6, p. 71-81, 2006.

DAVIDSON, T. R.; TOWNSHEND, J. L. Some weed hosts of the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Nematologica**, Leiden, v. 13, p. 452-458, 1967.

DAVIS, E. L.; HUSSEY, R. S.; BAUM, T. J. Getting to the roots of parasitism by nematodes. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 20, p. 134-141, 2004.

DE LEY, P.; BLAXTER, M. L. Systematic position and phylogeny. In: LEE, D. L. (Ed). **The biology of nematodes**. London: Taylor e Francis, 2002, cap. 1, p. 1-47.

DEFELICE, M. S. Green foxtail, *Setaria viridis* (L.) P. Beauv. **Weed Technology**, Champaign, v. 16 p. 253-257, 2002.

DELATORRE, C. A.; SILVA, A. A. *Arabidopsis thaliana*: Uma pequena planta um grande papel. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v.31, p. 58-67, 2008.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Nematoides – vilões subterrâneos. **Caderno Técnico Cultivar**, Pelotas, p. 3-6, 2011.

DOUGLAS, B. J.; GORDON, T. A.; MORRISON, I. N.; MAW, M. G. The biology of Canadian weeds: 70. *Setaria viridis* (L.) Beauv. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 65, p. 669-690, 1985.

FAN, L.; MA, J.; CHEN, YH.; CHEN, XQ. Antioxidant and antimicrobial phenolic compounds from *Setaria viridis*. **Chemistry of Natural Compounds**, New York, v. 50, p. 433-437, 2014.

FERNANDEZ-GARCIA, N.; GARMA, J. G.; OLMOS, E. ROS as biomarkers in hyperhydricity. In: GUPTA, S. D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2010, p. 249-279.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: NORMA EDITORA, 2016, 268p.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. Use of antagonistic plants and natural products. In: CHEN, Z. X.; CHEN, S. Y. & DICKSON, D. W. (Eds). **Nematology – Advances and perspectives**. Volume II: Nematode management and utilization. Beijing e Wallingford, Tsinghua University Press e CABI Publishing, 2004, cap. 19, p. 931-960.

FIORINI, C. V. A.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; FIORINO, I. V. A.; DUARTE, R. P. F.; LICURSI, A. Avaliação de populações F2 de alface quanto à resistência aos nematoides das galhas e tolerância ao florescimento precoce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 299-302, 2005.

FONTES, J. R. A.; SHIRATSUCHI, L. S.; NEVES, J. L.; JÚLIO, L.; FILHO, J. S. **Manejo de plantas daninhas**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2013. 48p. (Documentos, 2013).

FONSECA, H. S.; JAEHN, A. Estudos dos mecanismos de resistência em raízes de porta-enxertos de seringueiras inoculadas com *Meloidogyne javanica*, **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 24, p. 233-237, 2000.

FOYER C. H.; NOCTOR G. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. **Antioxidants & Redox Signaling**, New York, v. 11, p. 862-905, 2009.

FRAGOSO, R. R.; LOURENÇO, I. T.; VIANA, A. A. B.; SOUZA, D. S. L.; ANDRADE, R. U.; MEHTA, A.; BRASILEIRO, A. C. M.; PINTO, E. R. C.; LIMA, L. M.; ROCHA, T. L.; SA, M. F. G. **Interação molecular planta – nematoide**. Planaltina – DF: Embrapa Cerrados, 2007, 56 p. (Documentos, 198).

GILL, S. S.; TUTEJA N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology & Biochemistry**, New Delhi, v. 48, p. 909-930, 2010.

GUZZO S. D.; HAKAKAVA, R. Mecanismos envolvidos na resistência induzida em plantas a doenças: Sinalização e expressão de genes de defesa. In: RODRIGUES, F. A.; ROMEIRO, R.S. (Eds.) **Indução de resistência em plantas a patógenos**. Viçosa: Suprema, p. 281-301, 2007.

HALL, R. D. Plant metabolomics: from holistic hope, to hype, to hot topic. **New Phytologist**, Cambridge, v. 169, p. 453-469, 2006.

HERRMANN, K. M.; WEAVER, L. M. The shikimate pathway. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 473-503, 1999.

HOLM, L. G.; PLUCKNETT, D. L.; PANCHO, J. V.; HERBERGER, J. P. **The World's Worst Weeds: Distribution and Biology**. Malabar, FL: Krieger Publishing, 1991, 609p.

HUNT, D.; HANDOO, Z. Taxonomy, identification and principal species. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STAR, J. L. (Eds). **Root-knot nematodes**. Wallingford: CAB International, 2009, cap. 3, p. 55-88.

KARSEN, G. **The plant-parasitic nematode genus *Meloidogyne* Göldi, 1892 (Tylenchida) in Europe**. Leiden: Brill Academic Publishers, 2002, 161p.

- LORDELLO, L. G. E.; FAZUOLI, L. C.; ARANHA, C.; LORDELLO, R. R. A. Algumas plantas hospedeiras de nematoides do gênero *Meloidogyne*. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE PESQUISAS CAFEEIRAS, 3, 1975, Curitiba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 1975, p. 527-530.
- MANI, A.; HINAI, M. A. Host range and distribution of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* in the Sultanate of Oman. **Nematropica**, Florida, v. 26, p. 73-79, 1996.
- MEINKE, D. W.; CHERRY, J. M.; DEAN, C.; ROUNSLEY, S. D.; KOORNNEEF, M. *Arabidopsis thaliana*: a model plant for genome analysis. **Science**, Washington, v. 282, p. 662-682, 1998.
- MEISSNER, R.; JACOBSON, Y.; MELAMED, S.; LEVYATUV, S.; SHALEV, G.; ASHRI, A.; ELKIND, Y.; LEVY, AVRAHAM. A new model system for tomato genetics. **The Plant Journal**, Oxford, v.12, p.1464-1472, 1997.
- NGUYEN, G.N.; HAILSTONES, D. L.; WILKES, M.; SUTTON, B. G. Drought induced oxidative conditions in rice anthers leading to a programmed cell death and pollen abortion. **Journal of Agronomy e Crop Science**, Madison, v. 195, p. 157-164, 2009.
- O'BANNON, J. H.; SANTO, G. S.; NYCZEPIR, A. P. Host range of the Columbia root-knot nematode. **Plant Disease**, São Paulo, v. 66, p. 1045-1048, 1982.
- PASCHOLATI, S. F. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos patógenos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. (4.ed). Piracicaba: Agronômica Ceres, p. 593-636, 2011.
- PERRY R. N.; MOENS M.; STARR J. L. **Root-knot Nematodes**. London: CAB International, 2009, 488p.
- PINHEIRO, J. B.; CARVALHO, A. D. F.; VIEIRA, J. V. **Manejo do nematoide-das-galhas (*Meloidogyne* spp.) em cultivos de cenoura na região de Irecê-BA**. Brasília – DF: Embrapa Hortaliças, 2010. 7 p. (Comunicado Técnico, 77).

PINHEIRO, J. B.; PEREIRA, R. B.; ALMEIDA, M. R. A.; CARNEIRO, R. M. D. G. Identificação de espécies de *Meloidogyne* em tomateiros no Brasil. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento Embrapa Hortaliças**, Brasília, 2014.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Ed.). **Interação Planta Patógeno – fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 227-248.

SELLAMI, S.; LOUNICI, M.; EDDOUD, A.; BENSEGHIR, H. Distribution et plantes hotes associees aux *Meloidogyne* sous abris plastiques en Algerie. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v. 27, p. 295-301, 1999.

SIKORA, R. A., FERNANDEZ, E. Nematodes parasites of vegetables. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**, Wallingford: CAB International, 2005, cap. 9, p. 319-371.

SILVA, G. S. Métodos alternativos de controle de fitonematoides. **Revisão Anual de Patologia de plantas – RAPP**, Passo Fundo, v. 19, p. 81-118, 2011.

SILVA, M. S. **Comportamento de genótipos RB de cana-de-açúcar a nematoide das galhas e avaliação dos mecanismos de resistência envolvidos**. 2015, 70f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2015.

SILVA, L. M. A. **Dinâmica de fitonematoides, respostas nutricionais e enzimáticas da cana-de-açúcar**. 2017, 118f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2017.

SOARES, P. L. M.; SANTOS J. M. Fungos contra nematoides. **Revista Cultivar Hortaliças e Frutas**, Pelotas, v. 4, p. 9-13, 2004.

STIRLING, G. R. **Biological control of plant-parasitic nematodes**. Wallingford: UK, CAB International, 1991, 282p.

TEDFORD, E. C.; FORTNUM, B. A. Weed hosts of *Meloidogyne arenaria* and *M. incognita* common in tobacco fields in South Carolina. **Journal of Nematology**, São Paulo, v. 20, p. 102-105, 1988.

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

TRUDGILL, D. L.; BLOK, V. C. Apomitic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 39, p. 53-77, 2001.

UDDIN, M. K.; JURAIMI, A. S.; HOSSAIN, M. A.; ANWAR, F.; ALAM, M. A. Effect of salt stress of *Portulaca oleracea* on antioxidant properties and mineral compositions, **Australian Journal of Crop Science**, v. 6, p. 1732–1736, 2012.

UDDIN, M. K.; JURAMI, A. S.; HOSSAIN, M. S.; NAHAR, M. A. U.; ALI, M. E.; RAHMAN, M. M. Purslane weed (*Portulaca oleracea*): A prospective plant source of nutrition, Omega-3 fatty acid, and antioxidant attributes. **The Scientific World Journal**, Boyton Beach, v. 2014, p. 1-6, 2014.

WALKER, G. E.; COBON, J.; NOBBS, J. New Australian record for *Meloidogyne javanica* on *Portulaca oleracea*. **Australasian Plant Pathology**, Clayton, v. 31, p. 301, 2002.

WESEMAEL, W. M. L.; VIAENE, N.; MOENS, M. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe. **Nematology**, São Paulo, v. 13, p. 3-16, 2011.

ZHOU, YX.; XIN, HL.; RAHMAN, K.; WANG, SJ.; PENG, C.; ZHANG, H. *Portulaca oleracea* L.: A review of phytochemistry and pharmacological effects. **BioMed Research International**, New York, v. 2015, p. 1-12, 2015.



## CAPITULO II

---

**Caracterização enzimática e fisiológica de *Setaria viridis* em resposta ao parasitismo de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii***

1 **Caracterização enzimática e fisiológica de *Setaria viridis* em reposta ao parasitismo**  
2 **de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii***

3

4 M. F. L. David<sup>A</sup>, V. N. B. Silva<sup>B</sup>, E. A. Silva<sup>B</sup>, E. M. R. Pedrosa<sup>A</sup>, T. F. S. Vicente<sup>C</sup>, C.  
5 A. F. Sousa<sup>D</sup>, M. T. Souza Júnior<sup>D</sup>, L. M. P. Guimarães<sup>A,E</sup>

6 <sup>A</sup>Departamento de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia,  
7 Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, CEP 52171-900.

8 <sup>B</sup>Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal de  
9 Lavras, Lavras, CEP 37200-000

10 <sup>C</sup>Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
11 Recife, CEP 52171-900

12 <sup>D</sup>Laboratório de Genética e Biologia de plantas, Embrapa Agroenergia, Brasília, CEP  
13 70297-400

14 <sup>E</sup> Autor para correspondência. Email: lilianmguimaraes@gmail.com

15

16 **Resumo.** O objetivo do presente estudo foi avaliar o parasitismo de *Meloidogyne* spp.  
17 assim como, avaliar as respostas enzimáticas obtidas diante do parasitismo em *Setaria*  
18 *viridis* visando seu uso como potencial planta modelo nos estudos de resistência aos  
19 nematoides das galhas. As avaliações foram realizadas aos 10, 20 e 30 dias após  
20 inoculação de 0, 10.000 e 20.000 ovos e juvenis de *M. incognita*, *M. javanica* e *M.*  
21 *enterolobii* e, fundamentaram-se nas análises biométricas, desenvolvimento e  
22 reprodução das espécies de nematoides e a atividade de enzimas antioxidantes. Foi  
23 possível observar diferença significativa quanto às espécies inoculadas influenciando o  
24 peso fresco da parte aérea e o peso fresco do sistema radicular. *S. viridis* se mostrou  
25 imune (FR=0) as espécies de *Meloidogyne* inoculadas. Houve diferença significativa

1 (P≤0,01) quanto aos tratamentos na atividade da fenilalanina amônia liase. Dessa forma,  
2 os resultados deste trabalho possibilitam um maior conhecimento acerca da relação  
3 entre *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii* e *S. viridis*, podendo então sugerir o  
4 uso desta planta em medidas de manejo visto que os nematoides das galhas estão entre  
5 as espécies de patógenos mais prejudiciais aos cultivos no mundo.

## 6 **Introdução**

7 Os nematoides do gênero *Meloidogyne* Goeldi (1887) também conhecidos como  
8 nematoides das galhas, são cosmopolitas, possuem alta capacidade reprodutiva, entre  
9 outras características, estando entre os patógenos de plantas mais prejudiciais de todo  
10 mundo (TRUDGILL; BLOK, 2001). Atualmente das 100 espécies descritas, quatro  
11 espécies são consideradas como principais, *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M.*  
12 *hapla*, também tendo a ocorrência de espécies emergentes *M. enterolobii* e *M. chitwoodi*  
13 (CASTAGNONE-SERENO et al. 2013). No Brasil, as diferentes condições  
14 edafoclimáticas locais favoreceram as adaptações das espécies de *Meloidogyne*,  
15 intensificando e acelerando os danos causados às culturas (CASTRO et al. 2003), cujas  
16 reduções na produção podem variar de 20 a 100% (PINHEIRO et al. 2010). Diante  
17 dessa problemática, são necessárias medidas de controle que diminuam os danos e as  
18 consequentes perdas econômicas. As medidas de controle para os nematoides do gênero  
19 *Meloidogyne* são bem conhecidas e utilizadas, como por exemplo, exclusão e destruição  
20 de restos culturais, incorporação de matéria orgânica no solo, utilização de pousio, uso  
21 do controle biológico, rotação de culturas, culturas armadilhas, plantas antagonistas e o  
22 cultivo de variedades resistentes (SILVA 2011). As plantas antagonistas apresentam  
23 mecanismos protetores que previnem a atração, penetração, migração, formação dos  
24 sítios de alimentação, nutrição, reprodução ou até mesmo sobrevivência dos  
25 nematoides, sendo provavelmente efeitos da exsudação de metabólitos secundários que

1 são considerados como substâncias repelentes (FRAGOSO et al. 2007). Os mecanismos  
2 de resistência da planta podem ser ativados independente do ataque do fitonematoide,  
3 conhecido como mecanismo de defesa pré-formado ou, pode ser induzido, através de  
4 respostas da planta após o ataque do patógeno. O mecanismo de defesa pré-formado é  
5 evidenciado através de defesas estruturais e bioquímicas que dificultam ou impedem o  
6 avanço do patógeno para a planta (PASCHOLATI 2011). Segundo White et al. (2000),  
7 uma planta pode conter vários genes de resistência (R) sendo cada um responsável por  
8 um micro-organismo. A reação de hipersensibilidade (HR) é o reconhecimento do gene  
9 a virulência (*avr*) do patógeno pelo gene R da planta, se manifestando por meio da  
10 necrose ao redor da célula inicial do sítio de alimentação, resultando na interrupção da  
11 infecção e consequente resistência da planta à doença (BAKER 2002; FRAGOSO et al.  
12 2007). Durante a HR espécies reativas de oxigênio (EROs) são formadas, principal  
13 resposta bioquímica a um estresse e, visando prevenir danos ou até mesmo a morte  
14 celular as plantas possuem um sistema de defesa antioxidante (NGUYEN et al. 2009;  
15 SERKEDJIEVA 2011). Algumas enzimas conhecidas participando do sistema  
16 antioxidante são a dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), peroxidase do  
17 ascorbato (APX), fenilalanina amônia liase (PAL), entre outras (BARBOSA et al. 2014;  
18 COSTA et al. 2014). *Setaria viridis* (L.) P. Beauv. é uma gramínea anual originária dos  
19 continentes Europeu e Asiático, adaptada a vários habitat (DEFELICE 2002;  
20 DOUGLAS et al. 1985). Na Europa, Ásia, América do Norte, América do Sul, Austrália  
21 e na região do Norte da África é considerada como planta invasora comum (HOLM et  
22 al. 1991). A *S. viridis* apresenta metabolismo C<sub>4</sub>, ciclo de vida curto (60 dias),  
23 autofecundação, pequena estatura (10-15 cm) e alta produção de sementes  
24 (aproximadamente 13 mil sementes). Alguns extratos vegetais anteriormente  
25 investigados em *S. viridis* apresentaram entre seus constituintes químicos o ácido

1 cinâmico (FAN et al. 2014), um composto fenólico presente na via metabólica  
2 secundária sendo principalmente abordado em respostas de defesa das plantas. Estudos  
3 anteriores demonstram a interação entre *Meloidogyne* spp. e *S. viridis* relatando-a como  
4 hospedeira de, *M. chitwoodi* na Colômbia (O'BANNON; SANTO; NYCZEPIR 1982),  
5 *M. arenaria* e *M. incognita* em campos de fumo na Carolina do Sul – Estados Unidos  
6 (TEDFORD; FORTNUM 1988), *M. incognita* em casa de vegetação no Canadá  
7 (DAVIDSON; TOWNSHEND 1967) e por fim, *M. incognita* na Argélia (SELLAMI et  
8 al. 1999). Logo, o objetivo do presente estudo foi avaliar o comportamento de *Setaria*  
9 *viridis* em relação ao parasitismo de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii* no  
10 Brasil, observando a penetração, desenvolvimento e reprodução do patógeno, assim  
11 como, a avaliação de respostas fisiológicas e enzimáticas desenvolvidas pela planta.

## 12 **Material e Métodos**

### 13 *Área experimental*

14 O experimento foi conduzido nas dependências da Embrapa Agroenergia em  
15 Brasília – DF, em casa de vegetação por um período de três meses (Março a  
16 Maio/2018). Durante a experimentação as variáveis climatológicas foram monitoradas  
17 com o HOBOWare PRO apresentando temperatura média de 23,4 °C, umidade relativa  
18 do ar média de 72 %, intensidade luminosa média de 6.604 lx , e temperatura do solo  
19 média de 25,1 °C.

### 20 *Caracterização, obtenção e preparo do inoculo*

21 As populações utilizadas no experimento foram previamente caracterizadas com  
22 base no padrão perineal de fêmeas retiradas do interior de raízes de tomateiro  
23 (HARTMAN; SASSER 1985) sendo também caracterizadas através do padrão  
24 isoenzimático das esterases (CARNEIRO et al. 2001) revelando os fenótipos *M.*  
25 *incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*. Logo, as populações de *Meloidogyne* foram

1 obtidas da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Para o preparo do inóculo, os  
2 ovos foram extraídos das plantas de tomateiro infectadas seguindo a metodologia  
3 proposta por Hussey e Barker (1973), modificado por Bonetti e Ferraz (1981).

#### 4 *Preparo das plântulas de S. viridis*

5 Foi utilizado o acesso A10.1 de sementes de *S. viridis* para a obtenção das  
6 plântulas. Inicialmente foi realizada a quebra de dormência das sementes com ácido  
7 sulfúrico P.A e a desinfestação utilizando Tween®20 0,1%, hipoclorito de sódio 2% e  
8 água deionizada esterilizada (ADE). As sementes foram transferidas para placas de Petri  
9 contendo meio MS ½força (MURASHIGE; SKOOG 1962). Em seguida, foram  
10 transferidas para câmara de crescimento sendo mantida a temperatura de  $26\pm 2$  °C, luz  
11 de  $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro. Após sete dias  
12 em câmara de crescimento as plântulas foram transferidas para copos plásticos contendo  
13 substrato Bioplant e vermiculita na proporção de 1:1 esterilizados, em seguida, foram  
14 transferidas para casa de vegetação para aclimação.

#### 15 *Inoculação das plantas*

16 Após sete dias de aclimação em casa de vegetação, as plantas foram inoculadas  
17 as espécies *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*, nas densidades populacionais de  
18 0 (testemunha – t0), 10.000 (t1) e 20.000 (t2) ovos e juvenis. Além da inoculação das  
19 plantas de *S. viridis* terem sido repetidas para comprovação dos resultados que foram  
20 obtidos, também foram inoculados cinco tomateiros cultivar Santa Cruz Kada como  
21 testemunha padrão de suscetibilidade para avaliação da eficiência da infectividade do  
22 patógeno.

#### 23 *Delineamento experimental*

24 O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em fatorial: três  
25 espécies (*M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*), três tempos de avaliação (10, 20 e

1 30 dias após inoculação - DAI), três densidades de inóculo, 0 (testemunha- t0), 10.000  
2 (t1) e 20.000 (t2) ovos/juvenis em cinco repetições, totalizando 135 plantas.

### 3 *Biometria*

4 Foram retiradas para análises a parte aérea e o sistema radicular das plantas aos  
5 10, 20 e 30 DAI. A parte aérea fresca – PFPA (g) foi pesada e transferida para estufa  
6 com circulação de ar forçado para secagem durante 72 horas a 65 °C e assim, obter o  
7 peso seco da parte aérea – Biomassa (g) e porcentagem de água na planta - Água (g). O  
8 sistema radicular fresco – PFSR (g) foi cuidadosamente lavado e pesado.

### 9 *Penetração e desenvolvimento*

10 A análise do sistema radicular foi realizada para as plantas nos tempos de 10  
11 DAI e 20 DAI. As raízes foram coloridas seguindo o método do hipoclorito de sódio,  
12 fucsina ácida e glicerina proposto por Byrd et al. (1993) para avaliação da penetração e  
13 desenvolvimento do patógeno.

### 14 *Avaliação da reprodução do patógeno em S. viridis*

15 Aos 30 DAI para avaliar a reprodução dos nematoides, foi determinado o  
16 número de ovos por planta (NO); o fator de reprodução (FR= população final/população  
17 inicial, nas quais plantas com  $FR \geq 1$ , são consideradas como plantas hospedeiras e  
18 suscetíveis, aquelas com  $FR < 1$  são consideradas como plantas não hospedeiras e, as  
19 plantas com  $FR = 0$  são consideradas como imunes ao parasitismo) (COOLEN;  
20 D'HERDE 1972; MOURA; REGIS 1987; OOSTENBRINK 1966), além do índice de  
21 galhas (IG) e índice de massa de ovos propostos por Taylor e Sasser (1978).

### 22 *Coleta de amostras para atividade de enzimas antioxidantes*

23 Para atividade de enzimas antioxidantes foram analisadas três plantas por  
24 tratamento nos tempos de 10 DAI e 20 DAI. De cada planta foi retirada para análises o  
25 primeiro par de folhas completamente expandidas. As folhas coletadas foram

1 acondicionadas em tubos eppendorf de 5 ml, congeladas em nitrogênio líquido (N<sub>2</sub>) e  
2 em seguida, armazenadas em ultrafreezer a -80 °C, até o preparo do extrato enzimático,  
3 para avaliação das atividades enzimáticas.

#### 4 *Obtenção do extrato enzimático*

5 O extrato enzimático foi obtido pela maceração de 200 mg de folhas frescas  
6 congeladas em N<sub>2</sub> líquido com 50% de PVPP, com almofariz e pistilo, até a obtenção de  
7 um pó fino. Em seguida, em cada amostra foram adicionados 1,5 ml do tampão de  
8 extração contendo 375 µl de tampão fosfato de potássio 400 mM pH 7,8, 15 µl de  
9 EDTA 10 mM, 75 µl de ácido ascórbico 200 mM e 1035 µl de água deionizada. O  
10 extrato foi centrifugado a 10.000 rpm, por 10 minutos a 4 °C. Após centrifugação o  
11 sobrenadante foi coletado e armazenado a -20 °C para análise das atividades das  
12 enzimas dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), peroxidase do ascorbato  
13 (APX) e fenilalanina amônia liase (PAL).

#### 14 *Atividade da SOD (EC 1.15.1.1)*

15 A atividade da SOD foi avaliada segundo metodologia de Giannopolitis e Ries  
16 (1977) modificado, em que uma alíquota de 10 µl do extrato enzimático foram  
17 adicionados a 190 µl do meio de incubação contendo 100 µl de tampão fosfato de  
18 potássio 100 mM pH 7,8, 40 µl de metionina 70 mM, 3 µl de EDTA 10 µM, 31 µl de  
19 água deionizada, 15 µl de azul de nitrotetrazólio (NBT) 1 mM e 2 µl de riboflavina 0,2  
20 mM. As placas, contendo o meio de incubação mais amostra, foram iluminadas com  
21 lâmpada fluorescente de 20 W durante 7 minutos. Para controle, foi utilizado o mesmo  
22 meio de reação sem a amostra. A atividade foi determinada a 560 nm em  
23 espectrofotômetro de ELISA.

24

25



1            *Atividade da CAT (EC 1.11.1.6)*

2            A atividade da CAT foi avaliada segundo metodologia de Havir e McHale  
3 (1987) modificado, em que uma alíquota de 10 µl do extrato enzimático foi adicionada a  
4 190 µl do meio de incubação contendo 100 µl de tampão fosfato 200 mM pH 7,0, 80 µl  
5 de água deionizada e 10 µl de peróxido de hidrogênio 250 mM, incubado a 28 °C. A  
6 atividade foi determinada a 240 nm em espectrofotômetro de ELISA de 15 em 15  
7 segundos durante 3 minutos. Foi utilizado o coeficiente de extinção molar de 36 mM<sup>-1</sup>  
8 cm<sup>-1</sup>.

9            *Atividade da APX (EC 1.11.1.11)*

10           A atividade da APX foi avaliada segundo metodologia de Nakano e Asada  
11 (1981) modificado, em que uma alíquota de 10 µl do extrato enzimático foi adicionada a  
12 190 µl do meio de incubação contendo 100 µl de tampão fosfato 200 mM pH 7,0, 10 µl  
13 de ácido ascórbico 10 mM, 70 µl de água deionizada e 10 µl de peróxido de hidrogênio  
14 2 mM. A atividade foi determinada a 290 nm em espectrofotômetro de ELISA de 15 em  
15 15 segundos durante 3 minutos.

16           *Atividade da PAL (EC 4.3.1.24)*

17           A atividade da PAL foi avaliada segundo metodologia de Mori, Sakurai e Sakuta  
18 (2001) modificada, em que uma alíquota de 50 µl do extrato enzimático foi adicionada a  
19 150 µl do meio de incubação contendo 100 µl de tampão Tris-HCl pH 8,8 a 100mM e  
20 50 µl de L-fenilalanina a 40 mM. Após incubar a 37 °C por 30 minutos, a reação foi  
21 paralisada com 50 µl de ácido tricloroacético (TCA) a 25%. Foram coletados 190 µl e  
22 transferidos para placa UV. A atividade foi determinada a 280 nm em espectrofotômetro  
23 de ELISA.

24

25

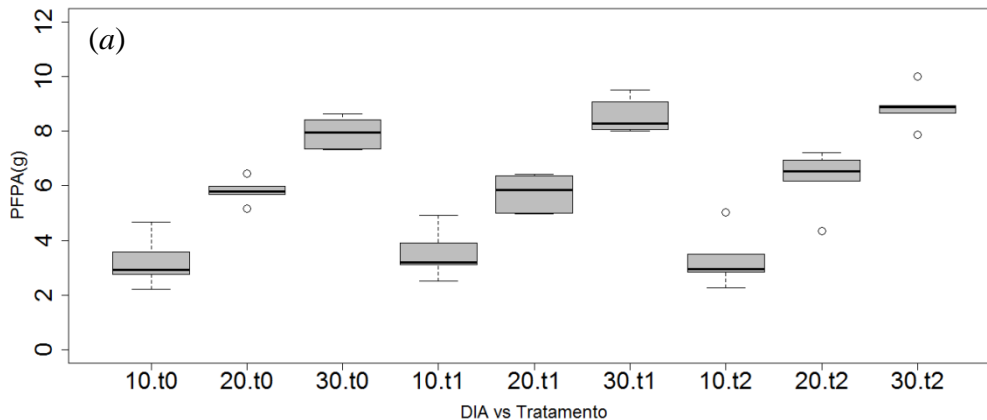
1 *Análise estatística*

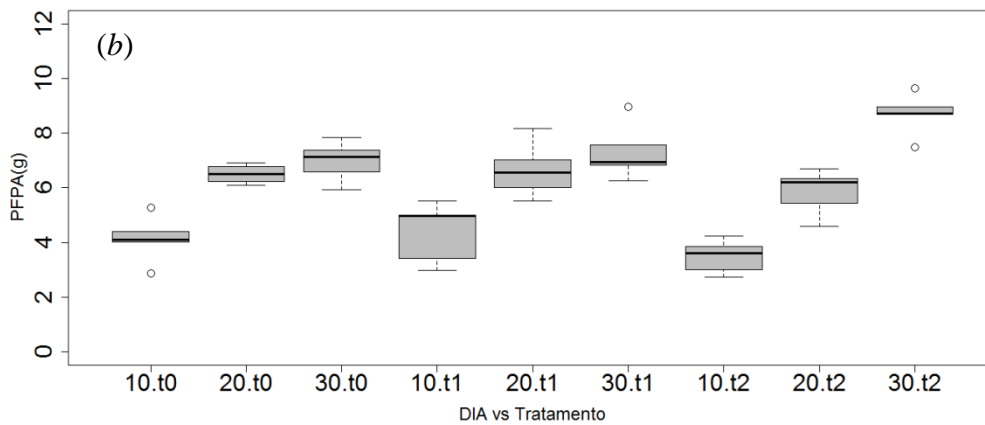
2 Os dados foram submetidos à análise multivariada com medida repetida no  
 3 tempo e MANOVA utilizando o Software SAS – Statistical Analytical System (SAS  
 4 Institute Inc. 2015). Os gráficos de bloxplot apresentados foram elaborados com o  
 5 Software R (R Core Team 2018).

6 **Resultados**

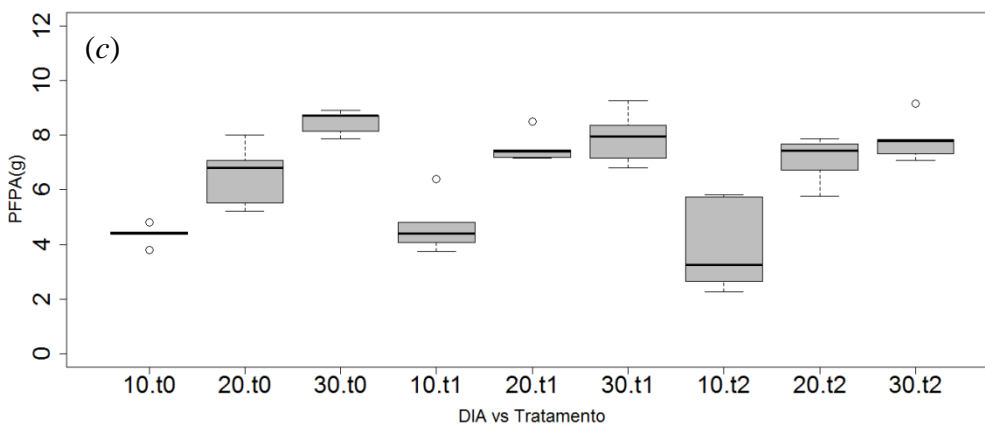
7 *Biometria*

8 A variável PFPA obteve média crescente ao longo do tempo. As plantas  
 9 inoculadas (t1) e (t2) obtiveram médias superiores quando comparadas com as plantas  
 10 controles (t0), mostrando que houve influencia das espécies *M. incognita* (Fig. 1a), *M.*  
 11 *javanica* (Fig. 1b) e *M. enterolobii* (Fig. 1c) inoculadas quanto ao desenvolvimento da  
 12 parte aérea de *S. viridis*.





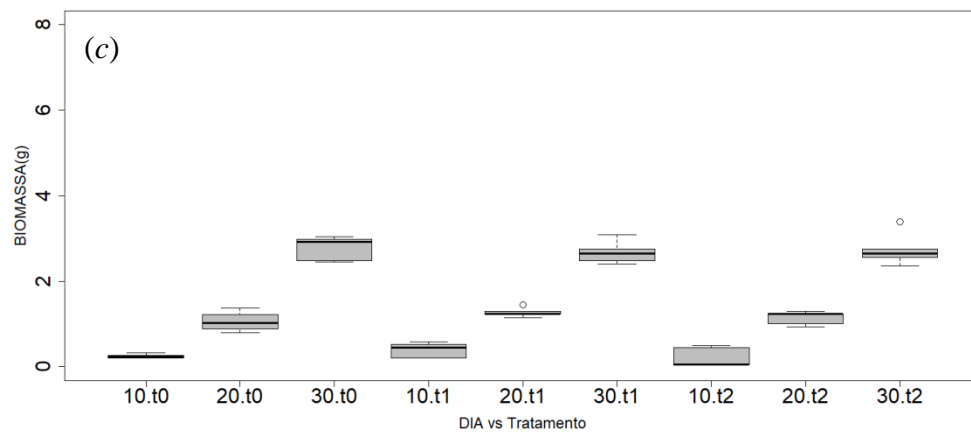
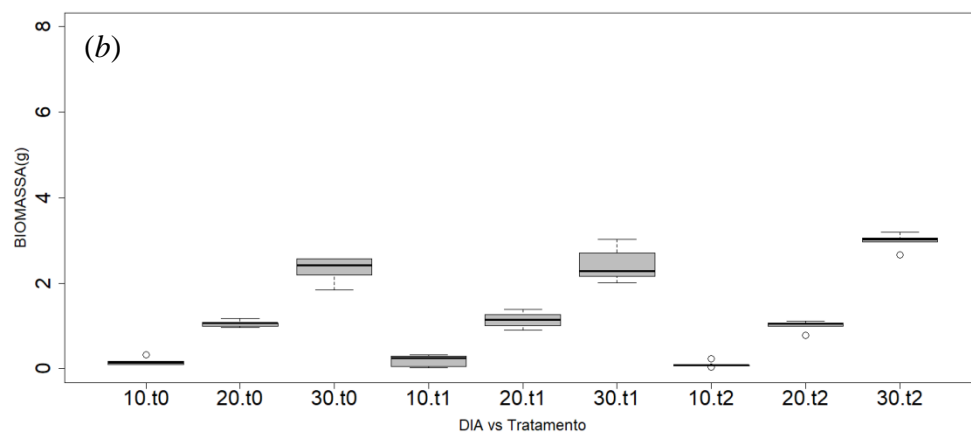
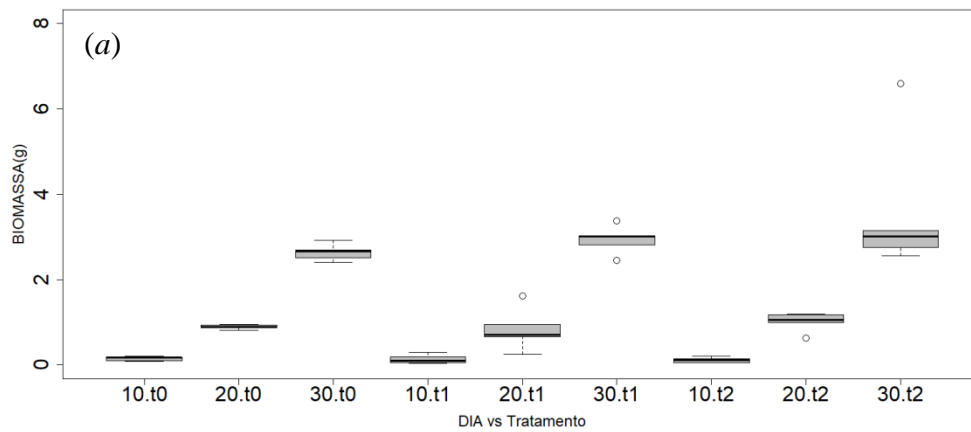
1



2

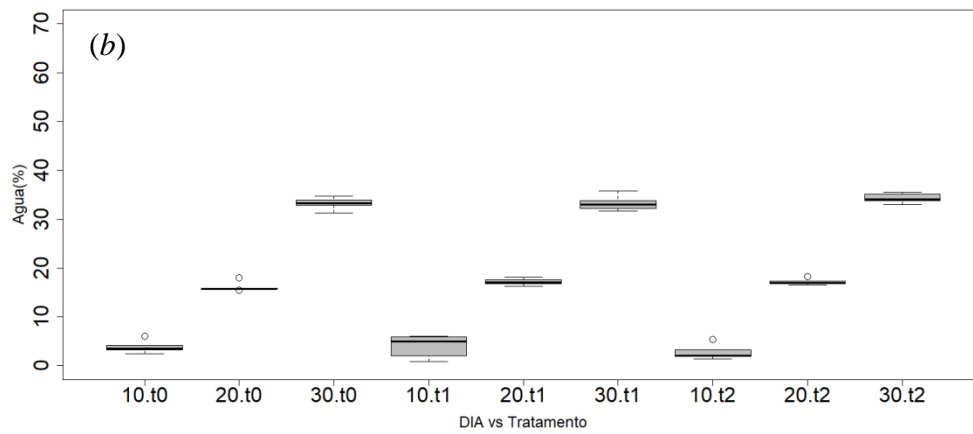
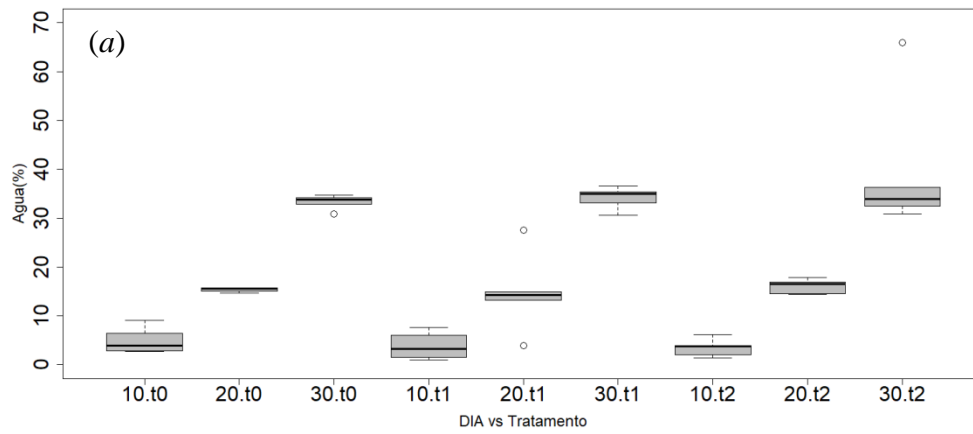
3 **Fig. 1.** Peso fresco da parte aérea (PFPA) (g) de *S. viridis* em relação aos dias de  
 4 avaliação (10, 20 e 30 DAI) e aos tratamentos aplicados (t0, t1 e t2), (a), plantas  
 5 inoculadas com *M. incognita*, (b) plantas inoculadas com *M. javanica* e (c) plantas  
 6 inoculadas com *M. enterolobii*.

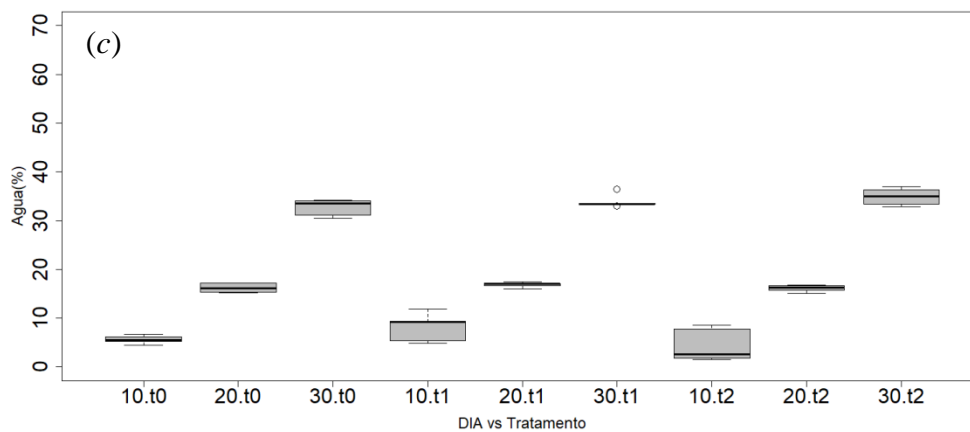
7 Quanto à variável Biomassa foi possível observar médias crescentes ao longo do  
 8 desenvolvimento da planta, revelando que assim como o PFPA, não houve influencia  
 9 das espécies *M. incognita* (Fig. 2a), *M. javanica* (Fig. 2b) e *M. enterolobii* (Fig. 2c)  
 10 inoculadas quanto ao desenvolvimento da Biomassa de *S. viridis*.



4 **Fig. 2.** Peso seco da parte aérea (Biomassa) (g) de *S. viridis* em relação aos dias de  
5 avaliação (10, 20 e 30 DAI) e aos tratamentos aplicados (t0, t1 e t2), (a), plantas  
6 inoculadas com *M. incognita*, (b) plantas inoculadas com *M. javanica* e (c) plantas  
7 inoculadas com *M. enterolobii*.

1 Assim como as variáveis PFPA e Biomassa, a Água também apresentou medidas  
2 crescentes ao longo do desenvolvimento de *S. viridis*. Não foi possível observar  
3 influência das espécies *M. incognita* (Fig. 3a), *M. javanica* (Fig. 3b) e *M. enterolobii*  
4 (Fig. 3c) inoculadas quanto à porcentagem de água nas plantas.

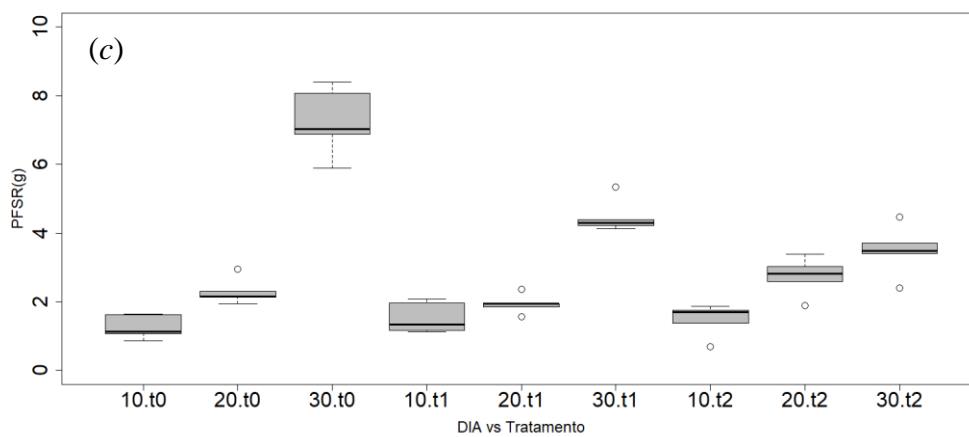
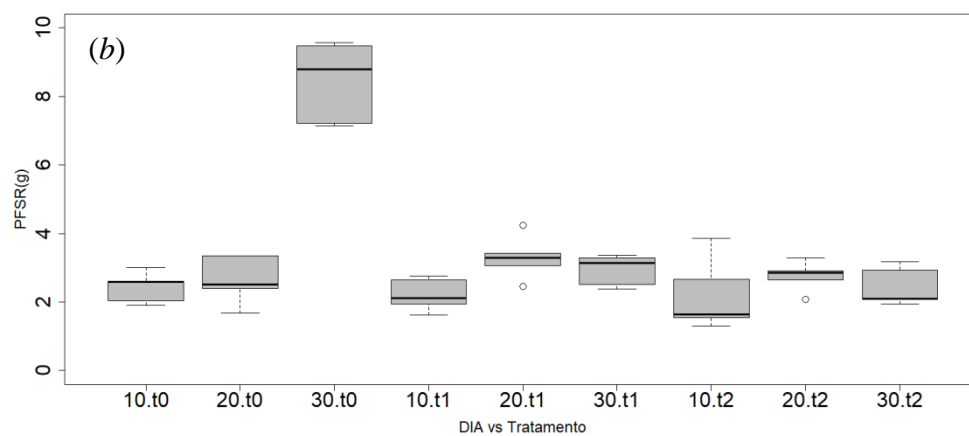
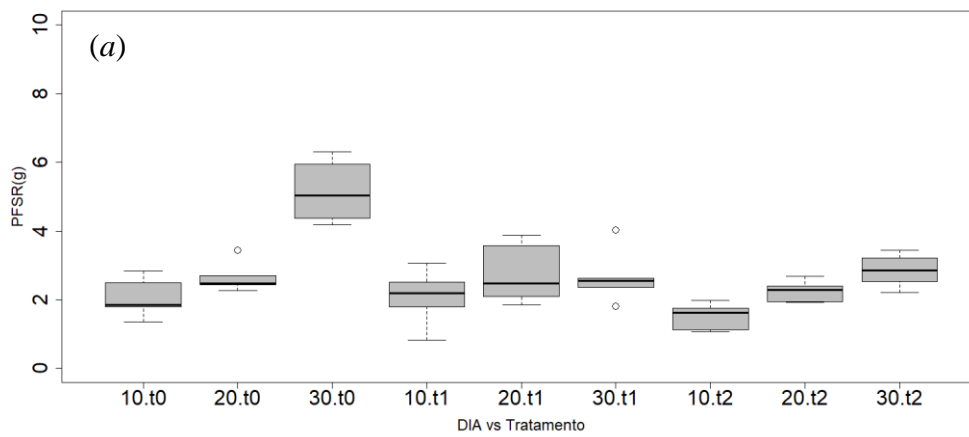




1

2 **Fig. 3.** Porcentagem de água (Água) (%) de *S. viridis* em relação aos dias de avaliação  
3 (10, 20 e 30 DAI) e aos tratamentos aplicados (t0, t1 e t2), (a), plantas inoculadas com  
4 *M. incognita*, (b) plantas inoculadas com *M. javanica* e (c) plantas inoculadas com *M.*  
5 *enterolobii*.

6 O PFSR apresentou médias reduzidas das plantas inoculadas (t1) e (t2) quando  
7 comparadas com as plantas controles (t0) das espécies *M. incognita* (Fig. 4a), *M.*  
8 *javanica* (Fig. 4b) e *M. enterolobii* (Fig. 4c) inoculadas, sendo possível observar uma  
9 interação entre os inóculos e o desenvolvimento do sistema radicular das plantas de *S.*  
10 *viridis*.



4 **Fig. 4.** Peso fresco do sistema radicular (PFSR) (g) de *S. viridis* em relação aos dias de  
 5 avaliação (10, 20 e 30 DAI) e aos tratamentos aplicados (t0, t1 e t2), (a), plantas  
 6 inoculadas com *M. incognita*, (b) plantas inoculadas com *M. javanica* e (c) plantas  
 7 inoculadas com *M. enterolobii*.

1 Com referência a análise estatística das variáveis biométricas estudadas, foi  
 2 possível observar diferença significativa quanto às espécies inoculadas influenciando o  
 3 PFPA e PFSR. Também foi possível observar diferença significativa ( $P < 0.001$ ) em  
 4 relação ao fator tempo em todas as variáveis analisadas. Quanto à interação entre tempo  
 5 e espécie inoculada observou-se diferença significativa no PFPA, Biomassa e PFSR.  
 6 Por fim, acerca à interação entre tempo e tratamento foi possível observar diferença  
 7 significativa nas variáveis Biomassa e o PFSR (Tabela 1).

8 **Tabela 1.** Valor de F na análise de medida repetida no tempo para PFPA, Biomassa,  
 9 Água e PFSR no estudo do parasitismo de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*.  
 10 em *S. viridis*.

<b>F.V<sup>a</sup></b>	<b>GL<sup>b</sup></b>	<b>PFPA<sup>c</sup></b>	<b>Biomassa<sup>d</sup></b>	<b>Água<sup>e</sup></b>	<b>PFSR<sup>f</sup></b>
Esp.	2	6,58*	1,48 <sup>ns</sup>	0,66 <sup>ns</sup>	10,39**
Trat.	2	1,22 <sup>ns</sup>	2,72 <sup>ns</sup>	0,84 <sup>ns</sup>	64,73**
Resíduo	40				
Tempo	2	224,07**	489,08**	713,36**	107,89**
Tempo x Esp.	4	3,78*	3,27*	1,73 <sup>ns</sup>	6,23**
Tempo x Trat.	4	1,73 <sup>ns</sup>	2,76*	1,76 <sup>ns</sup>	33,38**
Resíduo	80				

11 <sup>a</sup>F.V= fonte de variação; <sup>b</sup>GL= graus de liberdade; <sup>c</sup>PFPA = peso fresco da parte aérea  
 12 (g); <sup>d</sup>Biomassa= biomassa ou peso seco da parte aérea (g); <sup>e</sup>Água= porcentagem de água  
 13 nas plantas (%); <sup>f</sup>PFSR= peso fresco do sistema radicular (g); \* Significância ao nível  
 14 de 5% de probabilidade; \*\* Significância ao nível de 1% de probabilidade; <sup>ns</sup> Valores  
 15 não significativos pelo teste F.

16

17



1            *Penetração e desenvolvimento*

2            Em todos os tempos de avaliação realizados não foi possível observar no  
3 interior das raízes de *S. viridis* acesso A10.1 a presença de juvenis ou adultos de *M.*  
4 *incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*, considerando-se uma planta não hospedeira dos  
5 dessas espécies dos nematoides das galhas.

6            *Avaliação da reprodução do patógeno*

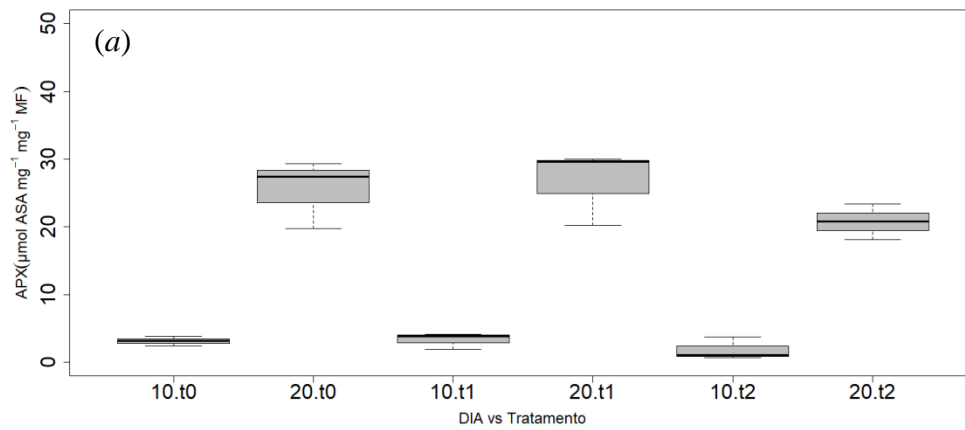
7            Foi possível observar que *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii* não se  
8 reproduziram ao final do experimento, mesmo com a maior densidade de ovos/juvenis  
9 inoculadas, apresentando FR=0, assim como foram avaliados o número de ovos por  
10 planta, número de ovos por grama de raiz, índice de galhas e índice de massa de ovos  
11 também com valores iguais a zero.

12            Nos tomateiros cv. Santa Cruz foi possível observar a reprodução do patógeno com  
13 fator de reprodução maior que um (FR>1), presença de galhas obtendo um índice  
14 equivalente a nota 5 (IG = 5) e massa de ovos das espécies inoculadas, provando a  
15 infectividade dos inóculos.

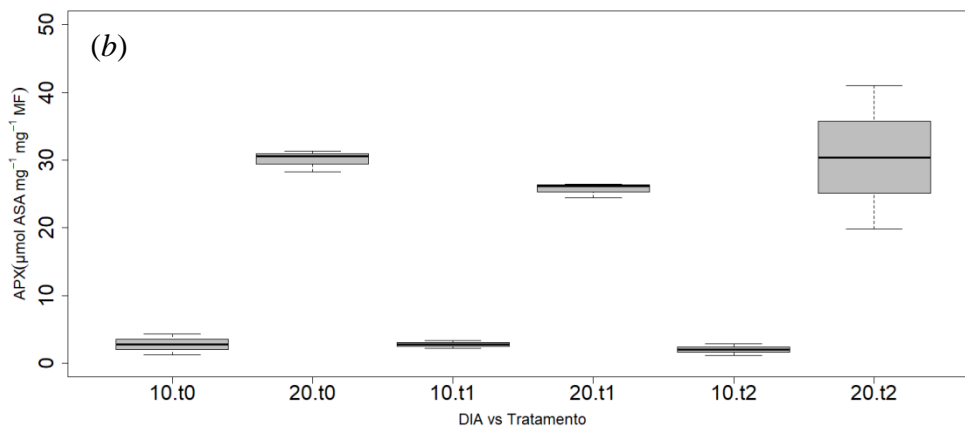
16            *Atividade de enzimas antioxidantes*

17            Não foi possível observar a atividade da dismutase do superóxido (SOD) e da  
18 catalase (CAT). A atividade da peroxidase do ascorbato (APX) obteve médias  
19 crescentes ao longo do tempo. Não foi possível observar uma interação entre as espécies  
20 *M. incognita* (Fig. 5a), *M. javanica* (Fig. 5b) e *M. enterolobii* (Fig. 5c) inoculadas e a  
21 atividade da APX.

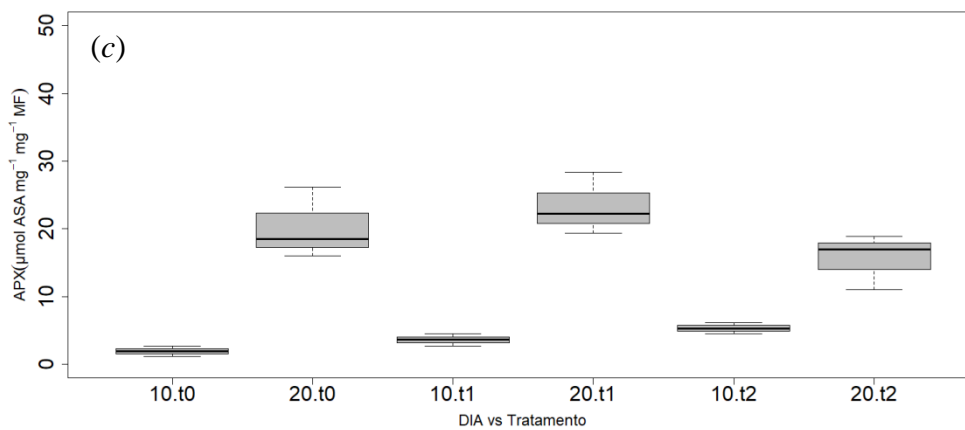
1



2

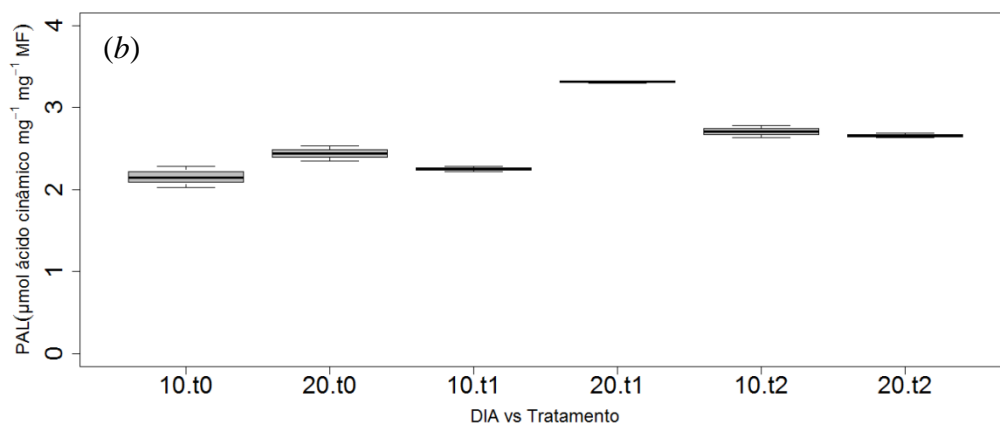
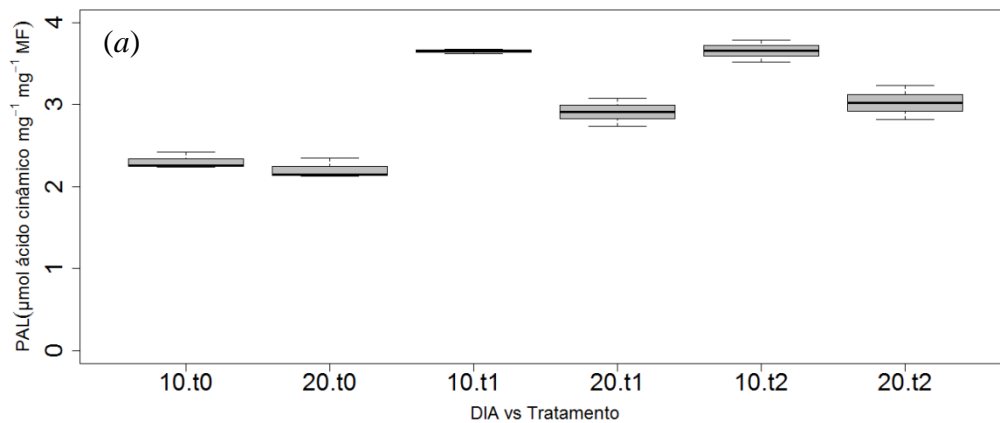


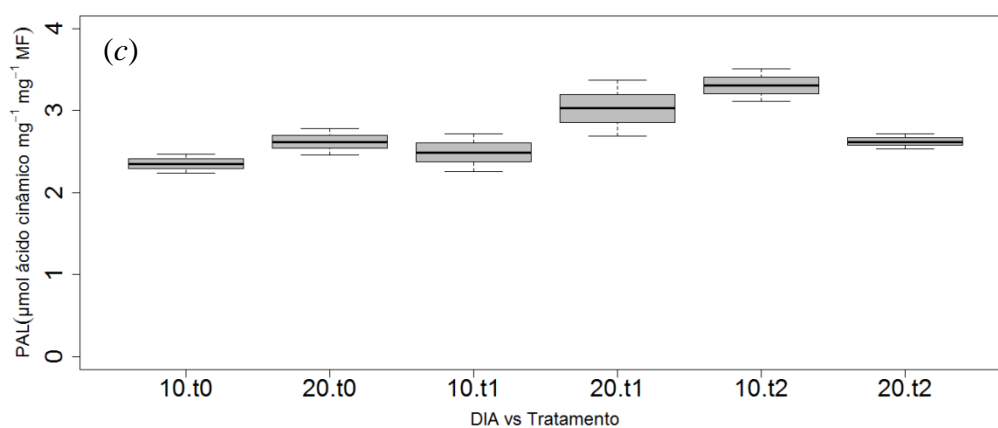
3



4 **Fig. 5.** Atividade da peroxidase do ascorbato (APX) ( $\mu\text{mol ASA mg}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{MF}$ ) de *S.*  
5 *viridis* em relação aos dias de avaliação (10, 20 e 30 DAI) e aos tratamentos aplicados  
6 (t0, t1 e t2), (a), plantas inoculadas com *M. incognita*, (b) plantas inoculadas com *M.*  
7 *javanica* e (c) plantas inoculadas com *M. enterolobii*.

1 A atividade da fenilalanina amônia liase (PAL), também obteve comportamento  
2 crescente quanto ao tempo. As espécies *M. incognita* (Fig. 6a), *M. javanica* (Fig. 6b) e  
3 *M. enterolobii* (Fig. 6c) inoculadas não mostraram relação quanto à atividade PAL, mas  
4 as diferentes densidades de inóculo (t1) e (t2) que foram aplicadas obtiveram médias  
5 superiores quando comparadas com as plantas controles (t0). As plantas (t0) também  
6 obtiveram resposta da atividade da PAL, provando que mesmo na ausência do patógeno  
7 ocorre a produção da fenilalanina amônia liase.





1

2 **Fig. 6.** Atividade da *fenilalanina amônia liase* (PAL) ( $\mu\text{mol ácido cinâmico mg}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{MF}$ )  
 3 <sup>1</sup>MF) de *S. viridis* em relação aos dias de avaliação (10, 20 e 30 DAI) e aos tratamentos  
 4 aplicados (t0, t1 e t2), (a), plantas inoculadas com *M. incognita*, (b) plantas inoculadas  
 5 com *M. javanica* e (c) plantas inoculadas com *M. enterolobii*.

6 A análise estatística da atividade da APX e da PAL mostrou que não houve  
 7 diferença significativa quanto às espécies inoculadas influenciando a APX e a PAL.  
 8 Também foi possível observar diferença significativa ( $P < 0.001$ ) em relação aos  
 9 tratamentos na atividade da PAL. As interações entre o tempo e espécie e, tempo e  
 10 tratamento foram significativas ( $P < 0.05$ ) para a atividade da PAL (Tabela 2).

11

12

13

14

15

16

17

1 **Tabela 2.** Valores de F na análise de medida repetida no tempo para as enzimas APX e  
 2 PAL avaliadas no estudo do parasitismo de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*.  
 3 em *S. viridis*.

<b>F.V<sup>a</sup></b>	<b>GL<sup>b</sup></b>	<b>APX<sup>c</sup></b>	<b>PAL<sup>d</sup></b>
Esp.	2	0,43 <sup>ns</sup>	3,25 <sup>ns</sup>
Trat.	2	2 <sup>ns</sup>	6,19**
Resíduo	22		
Tempo	1	91,2**	0,19 <sup>ns</sup>
Tempo x Esp.	2	0,57 <sup>ns</sup>	3,60*
Tempo x Trat.	2	2,66 <sup>ns</sup>	5,33*
Resíduo	22		

4 <sup>a</sup>F.V= fonte de variação; <sup>b</sup>GL= graus de liberdade; <sup>c</sup>APX= atividade da peroxidase do  
 5 ascorbato ( $\mu\text{mol ASA mg}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{MF}$ ); <sup>d</sup>PAL= atividade da fenilalanina amônia liase  
 6 ( $\mu\text{mol ácido cinâmico mg}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{MF}$ ); \* Significância ao nível de 5% de probabilidade;  
 7 \*\* Significância ao nível de 1% de probabilidade; <sup>ns</sup> Valores não significativos pelo  
 8 teste F.

## 9 **Discussão**

10 O aumento das variáveis PFPA, Biomassa e Água estão relacionados com  
 11 desenvolvimento da planta ao longo do tempo. Inicialmente aos 10 DAI a quantidade de  
 12 folhas era menor em comparação aos 30 DAI, nesta última fase de avaliação, a absorção  
 13 de água e nutrientes, produção de fotoassimilados, desenvolvimento da parte aérea,  
 14 como por exemplo, engrossamento dos colmos, produção de perfilhos, indução floral e  
 15 produção de sementes, aumentam com o crescimento e o desenvolvimento das plantas.

16 A redução do PFSR das plantas inoculadas em relação às plantas controle pode estar  
 17 relacionada à tentativa de estabelecimento do parasitismo. Assim, a planta ao contrário

1 de aumentar a produção de raízes diante do crescimento/desenvolvimento, estabelece  
2 como prioridade a maior produção de metabólitos secundários, evitando o ataque do  
3 patógeno.

4 O presente estudo demonstra que *S. viridis* acesso A10.1 não é uma planta  
5 hospedeira dos nematoides das galhas, apresentando imunidade ao parasitismo (FR=0)  
6 (OOSTENBRINK 1966). Por outro lado, O'Banon et al. (1982), Tedford e Fortnum  
7 (1988), Davidson e Townshend (1967) e Sellami et al. (2008) anteriormente assinalaram  
8 *S. viridis* como hospedeira de diferentes espécies dos nematoides das galhas. As plantas  
9 não hospedeiras de nematoides são aquelas que evitam que o patógeno penetre no seu  
10 interior através da liberação de compostos que não são atrativos para o estabelecimento  
11 do parasitismo, ou seja, por meio da exsudação de compostos repelentes aos  
12 nematoides, impedindo a migração no sentido da raiz e o não estabelecimento de uma  
13 relação parasitária (FRAGOSO et al. 2007).

14 A atividade da peroxidase do ascorbato (APX) não obteve resposta ao parasitismo e  
15 sim diante do fator tempo, podendo ter sido alterada devido a fatores ambientais  
16 desfavoráveis como, altas ou baixas temperaturas e intensidade luminosa. O aumento na  
17 atividade da APX diminui os níveis de peróxido de hidrogênio sendo eficiente na  
18 prevenção de danos celulares (GILL; TUTTEJA 2010; LOCATO et al. 2010).  
19 Anteriormente as atividades da SOD, CAT e APX foram detectadas em nematoides  
20 endoparasitas, no entanto, pouco se sabe acerca do papel dessas enzimas na relação  
21 entre patógeno-hospedeiro (EL-BELTAGI et al. 2012).

22 Uma interação molecular incompatível entre planta-nematoide é mostrada quando a  
23 planta evolui seus mecanismos de defesa, principalmente os mecanismos bioquímicos,  
24 através da produção de metabólitos secundários (FRAGOSO et al. 2007). No presente  
25 estudo, *S. viridis* apresentou produção de metabólitos secundários caracterizados pela

1 presença da atividade da fenilalanina amônia liase (PAL) que foi observada mesmo na  
2 ausência do patógeno.

3 A PAL é uma enzima do metabolismo secundário amplamente estudada em plantas  
4 por participar das reações do metabolismo de compostos fenólicos (STANGARLIN et  
5 al. 2011). Segundo Camm e Towers (1973), o aumento na quantidade da PAL nos  
6 tecidos das plantas aumenta a produção de compostos fenólicos. Em estudos  
7 comparando cultivares resistentes e suscetíveis a *M. incognita* foi demonstrado que nas  
8 plantas resistentes o nível de compostos fenólicos é maior quando comparadas as  
9 plantas suscetíveis até mesmo antes da inoculação das plantas com o nematoide  
10 (GIEBEL, 1982).

11 Durante a biossíntese de fenilpropanoídes a PAL atua através da catalisação da  
12 reação de conversão de L-fenilalanina em amônia e ácido *trans*-cinâmico  
13 (HERRMANN; WEAVER 1999). O ácido *trans*-cinâmico pode ser incorporado em  
14 diferentes compostos como, por exemplo, ácido 4-coumárico, ácido cafeico, ácido  
15 ferúlico e ácido sinápico, todos esses envolvidos para a formação de coumarinas,  
16 ésteres, lignina e flavonoides (SCHWAN-ESTRADA et al. 2008).

17 Compostos como flavonoides e fenóis exercem importante função nos mecanismos  
18 de defesa e resistência das plantas contra patógenos, podendo atuar sobre a  
19 sobrevivência do nematoide ou agir como repelente e/ou inibidor da migração durante a  
20 fase infectiva de *M. incognita* (MAHAJAN et al. 1992; NICHOLSON;  
21 HAMMERSCHMIDT 1992).

22 Estudos sobre a atividade da PAL em gramíneas parasitadas por *Meloidogyne* spp.  
23 são escassos, no entanto, as plantas da família Solanaceae e Fabaceae são responsáveis  
24 pela maioria dos relatos sobre a atividade da PAL diante do parasitismo com os  
25 nematoides das galhas. Um bom exemplo é relatado por Kalaiarasan (2009) em que

1 genótipos de tomate resistentes a *M. incognita* apresentam uma maior atividade da PAL  
2 quando comparadas aos genótipos suscetíveis, elucidando que a PAL é um importante  
3 composto bioquímico envolvido na defesa e resistência de plantas contra uma espécie  
4 dos nematoides das galhas.

5 Os resultados deste trabalho possibilitam um maior conhecimento acerca da relação  
6 entre *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii* e *S. viridis* acesso A10.1 indicando ser  
7 uma planta não hospedeira dos nematoides das galhas através da produção de  
8 compostos fenólicos, em especial, a fenilalanina amônia liase. Provou-se que *S. viridis*  
9 acesso A10.1 planta não estabelece parasitismo com essas espécies dos nematoides das  
10 galhas, não sendo possível seu emprego como planta modelo visando a busca de genes  
11 de resistência para o controle deste nematoides. A produção de compostos fenólicos até  
12 mesmo nas plantas não inoculadas (controle) pode ser indicativo que *S. viridis* acesso  
13 A10.1 possa ser utilizada como planta antagonista aos nematoides das galhas.

14

15



1 **Conflitos de interesse**

2 Os autores declaram que não há conflito de interesses.

3 **Agradecimentos**

4 Os autores agradecem ao CNPq pelo financiamento da bolsa em todo período de  
5 pesquisa e a Embrapa – Agroenergia, pelo espaço cedido para o desenvolvimento da  
6 pesquisa.

7

8

## 1 **Referências bibliográficas**

- 2 Baker, J (2002) Durability of resistance against potato cyst nematodes. *Euphytica*, 124:  
3 157-162.
- 4 Barbosa, MR, Silva, MMA, Willadino, L, Ulisses, C, Camara, TR (2014) Geração e  
5 desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciência*  
6 *Rural*, 44:453-460.
- 7 Bonetti, JIS, Ferraz, S (1981) Modificações do método de Hussey & Barker para  
8 extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. *Fitopatologia*  
9 *Brasileira*, 6:553.
- 10 Byrd, DW, Kirkpatrick, TJR, Barker, KR (1983) An improved technique for clearing  
11 and staining plant tissues for detection of nematodes. *J. Nematolog.*, 15:142-143.
- 12 Camm, EL, Towers, GHN (1973) Phenylalanine ammonia lyase. *Phytochemistry*,  
13 12:961-973.
- 14 Carneiro, RMDG, Almeida, MRA (2001) Técnica de eletroforese usada no estudo de  
15 enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. *Nematol. Bras.*,  
16 25:35-44.
- 17 Castagnone-Sereno, P, Danchin, EGJ, Perfus-Barbeoch, L, Abad, P (2013) Diversity  
18 and Evolution of Root-Knot Nematodes, Genus *Meloidogyne*: New Insights from the  
19 Genomic Era. *Annu Revi Phytopathol.*, 51:10.1-10.18.
- 20 Castro, JMC, Lima, RD, Carneiro, RMDG (2003) Variabilidade isoenzimática de  
21 populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de regiões brasileiras produtoras de  
22 soja. *Nematologia Brasileira*, 27:1-12.
- 23 Coolen, WA, D'Herde, CJ (1972) A method for the quantitative extration of nematodes  
24 from plant tissue. State Agriculture Research Center – Ghent, Belgium.
- 25

- 1 Costa, FP, Gomes, MAC, Bizzo, ALT, Vitória, AP (2014) Ação da catalase na  
2 tolerância de plantas de *Eichhornia crassipes* a  $\text{Cr}^{+3}$ . in: CONGRESSO  
3 FLUMINENSE DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA: O CAMINHO  
4 PARA INOVAÇÃO, 6, Campos dos Goitacases. Anais... Campos de Goitacases:  
5 UENF, 2014.
- 6 Davidson, TR, Townshend, JL (1967) Some weed hosts of the southern root-knot  
7 nematode *Meloidogyne incognita*. *Nematologica*, 13: 452-458.
- 8 Defelice, MS (2002) Green foxtail, *Setaria viridis* (L.) P. Beauv. *Weed Technology*, 16:  
9 253–257.
- 10 Douglas, BJ, Gordon, TA, Morrison, IN, MAW MG (1985) The biology of Canadian  
11 weeds: 70. *Setaria viridis* (L.) Beauv. *Canadian Journal of Plant Science*, 65: 669–  
12 690.
- 13 El-Beltagi, HS, Farahat, AA, Alsayed, AA, Mahfoud, NA (2012) Response of  
14 Antioxidant Substances and Enzymes Activities as a Defense Mechanism Against  
15 Root-Knot Nematode Infection. *Not. Bot. Horti. Agrobi.*, 40:132-142.
- 16 Fan, L, Ma, J, Chen, YH, Chen, XQ (2014) Antioxidant and antimicrobial phenolic  
17 compounds from *Setaria viridis*. *Chemistry of Natural Compounds*, 50: 433-437.
- 18 Fragoso, RR, Lourenço, IT, Viana, AAB, Souza, DSL, Andrade, RU, Mehta, A,  
19 Brasileiro, ACM, Pinto, ERC, Lima, LM, Rocha, TL, Sa, MFG (2007) Interação  
20 molecular planta – nematoide. Planaltina – DF: Embrapa Cerrados, 2007, 56 p.  
21 (Documentos, 198).
- 22 Giannopolitis, CN, Ries, SK (1977) Superoxide dismutase I: Occurrence in higher  
23 plants. *Plant Physiol.*, 59:309-314.
- 24

- 1 Gill, SS, Tuteja N (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic  
2 stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.*, 48:909–930.
- 3 Hartman, KM, Sasser, JN (1985) Identification of *Meloidogyne* species on the basis of  
4 differential host test and perineal patterns morphology. Pages: 69-77. in: An  
5 advanced treatise on Meloidogyne. Barker, K. R., Carter, C. C., and Sasser, J. N., ed.  
6 North Carolina State University Graphics, Raleigh, NC.
- 7 Havir, EA, McHale, NA (1987) Biochemical and developmental characterization of  
8 multiple forms of catalase in tobacco-leaves. *Plant Physiol.*, 84:450-455.
- 9 Herrmann, KM, Weaver, LM (1999) The shikimate pathway. *Annu. Rev. Plant Physiol.*  
10 *Plant Mol. Biol.*, 50:473–503.
- 11 Hussey, RS, Barker, KR (1973) A comparison of methods collecting inocula of  
12 *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Reporter*, 57:1025-1028.
- 13 Holm, LG, Plucknett, DL, Pancho, J.V, Herberger, JP (1991) The World's Worst  
14 Weeds: Distribution and Biology. Krieger Publishing , Malabar, FL.
- 15 Kalaiarasan, P (2009) Biochemical markers for identification of root knot nematode  
16 (*Meloidogyne incognita*) resistance in tomato. *Karnataka Journal of Agricultural*  
17 *Sciences*, 22:471-475.
- 18 Locato, V, Pinto, MC, Paradisoand, A, De Gara, L (2010) Reactive oxygen species and  
19 ascorbate-395 glutathione interplay in signaling and stress responses. Pages: 45-64.  
20 In: Reactive oxygen species and antioxidants 396 in higher plants. Gupta, S. D. ed.  
21 Science Publishers: Enfield, LDN.
- 22 Mahajan, R, Kaur, DJ, Bajaj, KL (1992) Nematicidal activity of phenolic compounds  
23 against *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Mediterranea*, 20:217-219.
- 24

- 1 Mori, T, Sakurai, M, Sakuta, M (2001). Effects of conditioned medium on activities of  
2 PAL, CHS, DAHP synthase (DS-Co and DS-Mn) and anthocyanin production in  
3 suspension cultures of *Fragaria ananassa*. *Plant Sci.*, 160:355-360.
- 4 Moura, RM, Regis, EMO (1987) Reações de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) em  
5 relação ao parasitismo de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* (Nematoda:  
6 Heteroderidae). *Nematol. Bras.*, 10:215-225.
- 7 Murashige, T, Skoog, F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with  
8 tobacco tissue cultures. *Physiologia Plant.*, 15:473-497.
- 9 Nakano, Y, Asada, K (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific  
10 peroxidases in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiol.*, 22:867-880.
- 11 Nguyen, GN, Hailstones, DL, Wilkes, M, Sutton, BG (2009) Drought induced oxidative  
12 conditions in rice anthers leading to a programmed cell death and pollen abortion. *J.*  
13 *Agron. Crop Sci.*, 195:157-164.
- 14 Nicholson, RL, Hammerschmidt, R (1992) Phenolic compounds and their role in  
15 disease resistance. *Annu. Rev. Plant Pathol.*, 107:19-28.
- 16 O'Banon, JH, Santo, GS, Nyczepir, AP (1982) Host range of the Columbia root-knot  
17 nematode. *Plant Dis.*, 66:1045-1048.
- 18 Oostenbrink, M (1966) Major characteristics of the relation between nematodes and  
19 plants. *Mededelingen Van de landbouwhogeschool*, 66:1-46.
- 20 Pascholati, SF (2011) Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos  
21 patógenos. Pages 593-636. in: *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos*.  
22 AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A., ed. Agronômica  
23 Ceres:Piracicaba, SP.
- 24

- 1 Pinheiro, JB, Carvalho, ADF, Vieira, JV (2010) Manejo do nematoide-das-galhas  
2 (*Meloidogyne* spp.) em cultivos de cenoura na região de Irecê-BA. Brasília – DF:  
3 Embrapa Hortaliças, (Comunicado Técnico, 77).
- 4 R Core Team (2018) R: A language and environment for statistical computing. R  
5 Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL. Site: [https://www.R-](https://www.R-project.org/)  
6 [project.org/](https://www.R-project.org/).
- 7 SAS – Statistical Analysis System. Institute Inc (2015) SAS/IML. 14.1. Users' snguide.,  
8 Cary, NC, USA. 2015. Site:  
9 <http://support.sas.com/documentation/cdl/en/imlug/68150/PDF/default/imlug.pdf>.
- 10 Schawan-Estrada, KRF, Stangarlin, JR, Pascholati, SF (2008) Mecanismos bioquímicos  
11 de defesa vegetal. Pages: 227-248. in: Interação Planta Patógeno – fisiologia,  
12 Bioquímica e Biologia Molecular. Pascholati, S. F., Leite, B., Stangarlin, J. R., and  
13 Cia, P. ed. FEALQ: Piracicaba, SP.
- 14 Sellami, S, Lounici, M, Eddoud, A, Benseghir, H (1999) Distribution et plantes hotes  
15 associees aux *Meloidogyne* sous abris plastiques en Algerie. *Nematologia*  
16 *Mediterranea*, 27:295-301.
- 17 Serkedjieva, J (2011) Antioxidant effects of plant polyphenols: a case study of a  
18 polyphenol-rich extract from *Geranium sanguineum* L. Pages: 275-293. in: Reactive  
19 oxygen species and antioxidants in higher plants. GUPTA, S.D. ed. Science  
20 Publishers: Enfield, LDN.
- 21 Silva, GS (2011) Métodos alternativos de controle de fitonematoides. *Revisão Anual de*  
22 *Patologia de plantas – RAPP*, 19:81-118.
- 23 Stangarlin, JR, Kuhn, OJ, Toledo, MV, Portz, RL, Schwan-Estrada, KRF, Pascholati, S  
24 F (2011) A defesa vegetal contra fitopatógenos. *Scientia Agraria Paranaensis*, 10:18-  
25 46.

- 1 Taylor, AL, Sasser, JN (1978) Biology, identification and control of root-knot  
2 nematodes (*Meloidogyne* species). North Carolina State University, Raleigh, NC.
- 3 Tedford, EC, Fortnum, BA (1988) Weed hosts of *Meloidogyne arenaria* and *M.*  
4 *incognita* common in tobacco fields in South Carolina. *Journal of Nematology*,  
5 20:102-105.
- 6 Trudgill, DL, Blok, VC (2001) Apomitic, polyphagous root-knot nematodes:  
7 exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annu. Rev.*  
8 *Phytopathol.*, 39:53-77.
- 9 White, FF, Yang, B, Johnson, LB (2000) Prospects for understanding avirulence gene  
10 function. *Current Opinion in Plant Biology*, 3:291-298.

11

12

13

### CAPITULO III

---

**Respostas enzimáticas e fisiológicas de *Portulaca oleracea* em relação ao parasitismo de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii***





1 planta imune (FR=0) as espécies de *Meloidogyne* inoculadas. Os tratamentos foram  
2 significativos para a atividade da PAL ( $P \leq 0,01$ ). Portanto, os resultados deste trabalho  
3 possibilitam um maior conhecimento acerca da relação entre *M. incognita*, *M. javanica*  
4 e *M. enterolobii* e *P. oleracea*, assim como, possibilitou um maior entendimento sobre  
5 os metabólitos produzidos diante da interação nematoide-planta, sugerindo de esta  
6 planta pode ser aplicada em medidas de manejo dos nematoides das galhas.

---

7 Os nematoides das galhas, pertencentes ao gênero *Meloidogyne* Goeldi (1887), são  
8 amplamente distribuídos no mundo, possuem alta capacidade reprodutiva, entre outras  
9 características, estando entre os patógenos de plantas mais prejudiciais de todo mundo  
10 (TRUDGILL; BLOK, 2001). Das 100 espécies já descritas, consideram-se quatro  
11 espécies como as principais causadoras perdas econômicas no mundo, *M. incognita*, *M.*  
12 *javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla*, sendo também citadas como importantes causadoras  
13 de perdas, as espécies emergentes *M. enterolobii* e *M. chitwoodi* (CASTAGNONE-  
14 SERENO et al., 2013).

15 As reduções causadas pelos nematoides do gênero *Meloidogyne* podem variar de 20  
16 a 100% de toda produção (PINHEIRO et al., 2010). Para evitar as reduções nas  
17 produções e as perdas econômicas geradas são necessárias medidas de manejo que  
18 promovam a redução da densidade populacional destes fitonematoides.

19 A exclusão e destruição de restos culturais, incorporação de matéria orgânica no  
20 solo, utilização de pousio, uso do controle biológico, rotação de culturas, culturas  
21 armadilhas, plantas antagonistas e o cultivo de variedades resistentes, são medidas de  
22 manejo bem difundidas visando o controle dos nematoides das galhas (SILVA, 2011).

23 As plantas antagonistas previnem a atração, penetração, migração, formação dos  
24 sítios de alimentação, nutrição, reprodução e até mesmo a sobrevivência dos nematoides  
25 através de ferramentas protetoras repelentes, provavelmente por efeito da exsudação de  
26 metabólitos secundários (FRAGOSO et al., 2007).

27 Os mecanismos de resistência da planta podem ser ativos independente do ataque do  
28 fitonematoide, conhecido como mecanismo de defesa pré-formado ou, pode ser  
29 induzido, através de respostas da planta após o ataque do patógeno. O mecanismo de  
30 defesa pré-formado é evidenciado através de defesas estruturais e bioquímicas que  
31 dificultam ou impedem o avanço do patógeno para a planta (PASCHOLATI, 2011).

32 A reação de hipersensibilidade (HR) é dada através do reconhecimento do gene a  
33 virulência (*avr*) do patógeno pelo gene de resistência da planta, se manifestando  
34 mediante necrose ao redor da célula inicial do sítio de alimentação que resulta na

1 interrupção da infecção e consequente resistência da planta à doença (BAKER, 2002;  
2 FRAGOSO et al., 2007).

3 A principal resposta bioquímica de defesa das plantas durante a HR é a formação  
4 espécies reativas de oxigênio (EROs) que tornam o meio celular tóxico para as plantas e  
5 podem até mesmo ocasionar sua morte, para isso, nas plantas existe um sistema de  
6 defesa antioxidante com enzimas como, dismutase do superóxido (SOD), catalase  
7 (CAT), peroxidase do ascorbato (APX), fenilalanina amônia liase (PAL), entre outras,  
8 que mantém os níveis de radicais livres reduzidos (BARBOSA et al., 2014; COSTA et  
9 al., 2014; NGUYEN et al., 2009; SERKEDJIEVA, 2011).

10 *Portulaca oleracea*, conhecida como beldroega no Brasil, é uma herbácea anual  
11 com distribuição cosmopolita (DANIN; REYES-BETANCORT, 2006). Sua origem não  
12 é certa, no entanto sua existência é datada cerca de 4.000 anos atrás também sendo  
13 relatada como vegetal medicinal muito usado durante o Império Romano (UDDIN, et  
14 al., 2014). É uma planta adaptada a diversos ambientes, por exemplo, jardins, campos  
15 de plantio, pomares, entre outros, além de se habituar a condições seca, salinidade e  
16 solos com deficiência nutricional (UDDIN et al., 2012; UDDIN et al., 2014).

17 A beldroega possui características morfológicas como, metabolismo transitório entre  
18 C<sub>4</sub>-CAM, pequeno porte (até 30 cm), ciclo de vida curto (80 dias), autofecundação e  
19 alta produção de sementes (aproximadamente 6.000 sementes) (UDDIN, et al., 2014;  
20 FONTES et al., 2013). Estudos quanto a sua estrutura química evidenciaram que a  
21 beldroega é uma planta rica em antioxidantes como, flavonoides, alcaloides,  
22 terpenoides,  $\alpha$ -tocoferol, esteróis, além de ter em sua composição, polissacarídeos,  
23 ácidos graxos, proteínas e minerais (UDDIN, et al., 2014; ZHOU et al., 2015).

24 Estudos anteriores evidenciaram *P. oleracea* como hospedeira de *M. arenaria* e *M.*  
25 *incognita* (TEDFORD; FORTNUM, 1988) na Carolina do Sul, *M. arenaria*, *M.*  
26 *incognita*, *M. enterolobii*, *M. javanica* na Flórida (BRITO et al., 2008), e *M. hapla*  
27 (BELAIR; BENOIT, 1996) na América do Norte, *M. incognita* em Omã na Península  
28 Arábica (MANI; HINAI, 1996), *M. incognita* e *M. javanica* em estudos na Argélia  
29 (SELLAMI et al., 1999), *M. javanica* na Austrália (WALKER et al., 2002). Logo, o  
30 objetivo do presente estudo foi avaliar o comportamento de *P. oleracea* em relação ao  
31 parasitismo de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii* no Brasil, observando a  
32 penetração, desenvolvimento e reprodução do patógeno, assim como, a avaliação de  
33 respostas fisiológicas e enzimáticas desenvolvidas pela planta.

34

## Material e Métodos

**Área experimental.** O experimento foi desenvolvido durante os meses de Março a Maio/2018 na Embrapa Agroenergia – Brasília (DF), em ambiente protegido e com as variáveis climatológicas monitoradas através do HOBOWare PRO que apresentou temperatura média de 23,4 °C, umidade relativa do ar média de 72 %, intensidade luminosa média de 6.604 lx , e temperatura do solo média de 25,1 °C.

**Caracterização, obtenção e preparo do inóculo.** As populações utilizadas durante a condução do experimento foram previamente caracterizadas com base no padrão perineal de fêmeas (HARTMAN; SASSER, 1985) e adicionalmente, também foram caracterizadas com base no padrão isoenzimático das esterases (CARNEIRO et al., 2001) que revelou os fenótipos *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*. Logo, as populações de *Meloidogyne* spp., foram encaminhadas da Universidade Federal Rural de Pernambuco para a Embrapa Agroenergia. O preparo do inóculo foi realizado seguindo a metodologia proposta por Hussey e Barker (1973) modificado por Bonetti e Ferraz (1981), em que os ovos foram extraídos das plantas de tomateiro infectadas com solução de hipoclorito de sódio (NaClO) com concentração de 0,5%.

**Preparo das plântulas de *P. oleracea*.** Foi utilizado o acesso B.1 de sementes de *P. oleracea*. Para a obtenção das plântulas foi realizada inicialmente a desinfestação das sementes com Tween@20 0,1%, NaClO 2%, em seguida, as sementes foram lavadas com água deionizada esterilizada (ADE) para retirada de qualquer resíduo que tenha restado. As sementes foram transferidas para placas de Petri contendo meio MS ½força (MURASHIGE; SKOOG, 1962). Posteriormente, as placas de Petri foram transferidas para câmara de crescimento com temperatura de 30 °C, luz de 150  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo com 16 horas de luz e 8 horas de escuro. Após 13 dias na câmara de crescimento as plântulas foram transferidas para copos plásticos contendo substrato Bioplant e vermiculita na proporção de 1:1 anteriormente esterilizados, em seguida, foram transferidas para casa de vegetação para aclimação.

**Inoculação das plantas.** Durante sete dias as plântulas permaneceram em casa de vegetação para aclimação e após esse período, as plantas foram inoculadas com uma suspensão contendo ovos e juvenis de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*, em

1 diferentes densidades populacionais com, 0 (testemunha), e 20.000 (t1) ovos e juvenis.  
2 Além da inoculação de plantas de *P. oleracea* também foram inoculadas cinco plantas  
3 de tomateiros cv. Santa Cruz Kada como testemunha padrão de suscetibilidade para  
4 avaliação da eficiência da infectividade do patógeno.

5

6 **Delineamento experimental.** O arranjo experimental utilizado foi o delineamento  
7 inteiramente casualizado em fatorial contendo três espécies (*M. incognita*, *M. javanica* e  
8 *M. enterolobii*), três tempos de avaliação (10, 20 e 30 dias após inoculação - DAI), duas  
9 densidades de inóculo (0, testemunha (t0) e 20.000 (t1) ovos/juvenis) em cinco  
10 repetições, formando um total de 90 plantas no experimento.

11

12 **Biometria.** As análises da parte aérea e do sistema radicular das plantas foram  
13 realizadas aos 10, 20 e 30 DAI. O peso fresco da aérea fresca – PFPA (g) foi pesado e  
14 transferido para estufa com circulação de ar forçado para secagem durante 72 horas a 65  
15 °C para então se ter a obtenção do peso seco da parte aérea – Biomassa (g) e a  
16 porcentagem de água na planta - Água (g). Para o peso fresco do sistema radicular –  
17 PFSR lavou-se cuidadosamente e pesou-se o sistema radicular.

18

19 **Penetração e desenvolvimento dos fitonematoides.** As raízes foram coloridas  
20 para observação da penetração e desenvolvimento dos nematoides seguindo a  
21 metodologia proposta por Byrd et al. (1993) em que se utiliza hipoclorito de sódio,  
22 fucsina ácida e glicerina, sendo realizadas nas raízes coletadas aos 10 e 20 DAI.

23

24 **Avaliação da reprodução dos fitonematoides em *S. viridis*.** Para avaliar a  
25 reprodução dos nematoides, aos 30 DAI foi determinado com base em análises do  
26 sistema radicular o número de ovos por planta (NO); o fator de reprodução (FR=  
27 população final/população inicial, em que plantas com  $FR \geq 1$ , plantas hospedeiras e  
28 suscetíveis, já as plantas apresentando  $FR < 1$  são consideradas como não hospedeiras e,  
29 as plantas com  $FR = 0$  consideram-se imunes ao parasitismo dos fitonematoides)  
30 (COOLEN; D'HERDE, 1972; MOURA; REGIS, 1987; OOSTENBRINK, 1966). Para  
31 avaliar os índice de galhas (IG) e índice de massa de ovos seguiram-se as metodologias  
32 propostas por Taylor e Sasser (1978).

33

1 **Coleta de amostras para atividade de enzimas antioxidantes.** A atividade de  
2 enzimas antioxidantes foi realizada utilizando três plantas por tratamento nos tempos de  
3 10 DAI e 20 DAI. Para a análise das enzimas antioxidantes foi retirada de cada planta o  
4 primeiro par de folhas completamente expandidas. A coleta foi realizada com bisturi  
5 estéril e as folhas coletadas foram rapidamente acondicionadas em tubos eppendorf de 5  
6 ml, congeladas em nitrogênio líquido (N<sub>2</sub>) e em seguida, armazenadas em ultrafreezer  
7 com temperatura constante de -80 °C, até o preparo do extrato enzimático, para  
8 avaliação das atividades enzimáticas.

9  
10 **Obtenção do extrato enzimático.** O extrato enzimático foi obtido através da  
11 maceração de 200 mg das folhas anteriormente congeladas em N<sub>2</sub> líquido em 50% de  
12 PVPP, com almofariz e pistilo, até a obtenção de um pó fino. Em seguida, a cada  
13 amostra foram adicionados 1,5 ml do tampão de extração que contém 375 µl de tampão  
14 fosfato de potássio 400 mM pH 7,8, 15 µl de EDTA 10 mM, 75 µl de ácido ascórbico  
15 200 mM e 1035 µl de água deionizada. O extrato obtido foi centrifugado sob rotação de  
16 10.000 rpm, durante 10 minutos a 4 °C. Após a centrifugação o sobrenadante foi  
17 coletado e armazenado em tubos eppendorfs e acondicionados a -20 °C para posteriores  
18 análises das enzimas do sistema antioxidante. As atividades das enzimas antioxidantes  
19 foram realizadas para avaliar a dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT),  
20 peroxidase do ascorbato (APX) e fenilalanina amônia liase (PAL).

21  
22 **Atividade da SOD (EC 1.15.1.1).** Segundo a metodologia de Giannopolitis e Ries  
23 (1977) modificado, a atividade da SOD foi avaliada utilizando uma alíquota de 10 µl do  
24 extrato enzimático e foram adicionados a 190 µl do meio de incubação contendo 100 µl  
25 de tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,8, 40 µl de metionina 70 mM, 3 µl de  
26 EDTA 10 µM, 31 µl de água deionizada, 15 µl de azul de nitrotetrazólio (NBT) 1 mM e  
27 por fim, 2 µl de riboflavina 0,2 mM. As placas, contendo o meio de incubação com a  
28 amostra, foram iluminadas com lâmpada fluorescente de 20 W durante 7 minutos. O  
29 controle foi utilizado com o mesmo meio de reação sem conter a amostra. A atividade  
30 da SOD foi determinada a 560 nm em espectrofotômetro de ELISA.

31  
32 **Atividade da CAT (EC 1.11.1.6).** Segundo a metodologia de Havir e McHale  
33 (1987) modificada, a atividade da CAT foi obtida através de uma alíquota de 10 µl do  
34 extrato enzimático onde foram adicionadas a 190 µl do meio de incubação com 100 µl

1 de tampão fosfato 200 mM pH 7,0, 80 µl de água deionizada e 10 µl de peróxido de  
2 hidrogênio 250 mM, incubado a 28 °C. A atividade foi determinada a 240 nm em  
3 espectrofotômetro de ELISA de 15 em 15 segundos durante 3 minutos. O coeficiente de  
4 extinção molar utilizado foi de 36 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>.

5

6 **Atividade da APX (EC 1.11.1.11).** Segundo a metodologia de Nakano e Asada  
7 (1981) modificado, a atividade da APX foi avaliada na qual uma alíquota de 10 µl do  
8 extrato enzimático foi adicionada a 190 µl do meio de incubação contendo 100 µl de  
9 tampão fosfato 200 mM pH 7,0, 10 µl de ácido ascórbico 10 mM, 70 µl de água  
10 deionizada e 10 µl de peróxido de hidrogênio 2 mM. A atividade foi determinada a 290  
11 nm em espectrofotômetro de ELISA de 15 em 15 segundos durante 3 minutos.

12

13 **Atividade da PAL (EC 4.3.1.24).** Segundo a metodologia de Mori, Sakurai e  
14 Sakuta (2001) modificada, a atividade da PAL foi avaliada em que uma alíquota de 50  
15 µl do extrato enzimático foi adicionada a 150 µl do meio de incubação contendo 100 µl  
16 de tampão Tris-HCl pH 8,8 a 100mM e 50 µl de L-fenilalanina a 40 mM. Após incubar  
17 a 37 °C por 30 minutos, a reação foi paralisada com 50 µl de ácido tricloroacético  
18 (TCA) a 25%. Foram coletados 190 µl e transferidos para placa UV. A atividade foi  
19 determinada a 280 nm em espectrofotômetro de ELISA.

20

21 **Análise estatística.** Os dados obtidos foram submetidos à análise multivariada com  
22 medida repetida no tempo e MANOVA utilizando o Software SAS – Statistical  
23 Analytical System (SAS Institute Inc., 2015). Os gráficos de bloxplot apresentados  
24 foram elaborados com o Software R (R Core Team 2018).

25

26

## Resultados

27

28 **Biometria.** A variável PFPA foi crescente ao longo do tempo, reduzindo o peso  
29 fresco da parte aérea ao final dos 30 DAI tendo em vista o fechamento do ciclo de vida  
30 de *P. oleracea*, quando já começam a ter queda das folhas. Não foi possível observar  
31 influência das espécies *M. incognita* (Fig. 1A), *M. javanica* (Fig. 1B) e *M. enterolobii*  
32 (Fig. 1C) inoculadas quanto ao desenvolvimento da parte aérea de *P. oleracea*.

33

34

A variável Biomassa se comportou de forma parecida quando comparada ao PFPA,  
mostrando que ao final dos 30 DAI ocorreu um declínio do peso, provavelmente

1 decorrente do fechamento do ciclo de *P. oleracea*. Não foi possível observar influência  
2 das espécies *M. incognita* (Fig. 2A), *M. javanica* (Fig. 2B) e *M. enterolobii* (Fig. 2C)  
3 inoculadas quanto ao desenvolvimento do peso seco de *P. oleracea*.

4 Na variável Água (%) também obteve comportamento de redução ao final dos 30  
5 DAI decorrente do fechamento do ciclo de *P. oleracea*, quando as folhas começam a  
6 cair, já se teve indução floral, entre outros. Foi possível observar influência das espécies  
7 *M. incognita* (Fig. 3A), *M. javanica* (Fig. 3B) e *M. enterolobii* (Fig. 3C) inoculadas  
8 quanto ao acúmulo de água nas plantas.

9 O PFSR obteve média crescente ao longo do tempo até mesmo nas plantas  
10 inoculadas (t1) quando comparadas com as plantas controle (t0) obtiveram médias  
11 superiores. Foi possível observar influência do tratamento (densidade de inoculo) de *M.*  
12 *incognita* (Fig. 4A), *M. javanica* (Fig. 4B) e *M. enterolobii* (Fig. 4C) inoculadas no  
13 desenvolvimento do sistema radicular dessas plantas.

14 De acordo com a análise estatística das variáveis biométricas estudadas, foi  
15 possível observar diferença significativa quanto às espécies inoculadas influenciando o  
16 PFSR e Água. O tratamento aplicado foi significativo no PFSR. Também foi possível  
17 observar diferença significativa ( $P < 0,01$ ) em relação ao fator tempo em quase todas as  
18 variáveis analisadas, exceto na Água. Quanto à interação entre tempo e espécie  
19 inoculada observou-se diferença significativa na Biomassa e Água. Por fim, acerca da  
20 interação entre tempo e tratamento não foi possível observar diferença significativa nas  
21 variáveis estudadas (Tabela 1).

22

23 **Penetração e desenvolvimento.** Em todos os tempos de avaliação não foi possível  
24 observar no interior das raízes de *P. oleracea* acesso B.1 a presença de juvenis ou  
25 adultos de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*, mostrando ser uma planta não  
26 hospedeira dessas espécies de nematoides do gênero *Meloidogyne*.

27

28 **Avaliação da reprodução do patógeno.** Observou-se que *M. incognita*, *M. javanica*  
29 e *M. enterolobii* não se reproduziram ao final do experimento, mesmo com a maior  
30 densidade de ovos/juvenis inoculadas, apresentando  $FR=0$ , assim como foram avaliados  
31 o número de ovos por planta, número de ovos por grama de raiz, índice de galhas e  
32 índice de massa de ovos também com valores iguais a zero.

33 Nos tomateiros cv. Santa Cruz foi possível observar a reprodução do patógeno com  
34 fator de reprodução maior que um ( $FR > 1$ ), presença de galhas obtendo um índice



1 equivalente à nota cinco (IG = 5) e massa de ovos das espécies inoculadas, provando a  
2 infectividade dos inóculos.

3

4 **Atividade de enzimas antioxidantes.** Não foi possível observar a atividade da  
5 dismutase do superóxido (SOD). A atividade da peroxidase do ascorbato (APX) obteve  
6 médias crescentes ao longo do tempo. Não foi possível observar uma interação entre as  
7 espécies *M. incognita* (Fig. 5A), *M. javanica* (Fig. 5B) e *M. enterolobii* (Fig. 5C)  
8 inoculadas e a atividade da APX.

9 A atividade da CAT obteve médias crescentes ao longo do tempo, tendo aos 30 DAI  
10 nas plantas (t1) maiores médias quando comparadas com as plantas (t0), ou seja, foi  
11 possível observar uma interação entre as espécies *M. incognita* (Fig. 6A), *M. javanica*  
12 (Fig. 6B) e *M. enterolobii* (Fig. 6C) inoculadas e a atividade da CAT.

13 A atividade da PAL também obteve comportamento crescente quanto ao tempo.  
14 As espécies *M. incognita* (Fig. 7A), *M. javanica* (Fig. 7B) e *M. enterolobii* (Fig. 7C)  
15 inoculadas não mostraram relação quanto à atividade PAL e sim quanto a densidade de  
16 inóculo que foi aplicada já que obteve média superior quando comparada com as plantas  
17 controles (t0) ainda que as plantas (t0) também apresentaram resposta da atividade da  
18 PAL, provando que mesmo na ausência do patógeno ocorre a produção da fenilalanina  
19 amônia liase em *P. oleracea*.

20 Diante da análise estatística foi possível observar diferença significativa quanto às  
21 espécies inoculadas na variável CAT. O tratamento foi significativo para a atividade da  
22 PAL ( $P \leq 0,01$ ). Também foi possível observar diferença estatística no fator tempo para  
23 todas as variáveis estudadas. Quanto às interações entre o tempo e espécie e, tempo e  
24 tratamento não foi possível observar diferença estatística nas variáveis de estudo  
25 (Tabela 2).

26

27

## Discussão

28

29 Não houve interferência dos tratamentos e das espécies inoculadas no *PFPA* e  
30 *Biomassa*, tendo as plantas apresentado um bom crescimento durante o  
31 desenvolvimento de seu ciclo biológico. As espécies inoculadas e o tratamento aplicado  
32 influenciaram o *PFSR* ocorrendo um aumento nas plantas inoculadas com 20.000 ovos e  
33 juvenis, quando comparadas às plantas controle, sendo necessários mais estudos para o  
34 entendimento desta alteração.

1 O presente estudo demonstra que *P. oleracea* apresenta imunidade ao parasitismo  
2 (FR=0) (OOSTENBRINK, 1966). Por outro lado, Tedford e Fortnum (1988), Brito et al.  
3 (2008), Belair e Benoit (1996), Mani e Hinai (1996), Sellami et al. (2008) e Walker et  
4 al. (2002) anteriormente assinalaram *P. oleracea* como hospedeira de diferentes  
5 espécies dos nematoides das galhas. Por ser imune ao parasitismo, evitam a penetração  
6 do nematoide no sistema radicular através da liberação de compostos repelentes aos  
7 nematoides, impedindo a migração no sentido da raiz e o não estabelecimento deste  
8 patógeno (FRAGOSO, et al. 2007).

9 A atividade da peroxidase do ascorbato (APX) não obteve resposta ao parasitismo,  
10 mas obteve resposta diante do fator tempo com a hipótese de ter sido alterada devido a  
11 fatores ambientais desfavoráveis. O aumento na atividade da APX diminui os níveis de  
12 peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) sendo efetiva na prevenção de danos celulares  
13 provocados pelos radicais livres formados através das EROs (GILL; TUTTEJA, 2010;  
14 LOCATO et al., 2010).

15 Aos 20 DAI a atividade da catalase (CAT) obteve resposta às espécies inoculadas  
16 apresentando uma média de  $2,26 \mu\text{mol ASA mg}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{MF}$  nas plantas inoculadas com  
17 *M. enterolobii*. Assim como a APX, a CAT é responsável por eliminar o efeito tóxico  
18 do  $H_2O_2$  formado pelas EROs durante a reação de hipersensibilidade, evidenciando a  
19 resposta de defesa desta planta ao ataque dos nematoides das galhas (EL-BELTAGI et  
20 al., 2012). A diferença na atividade da catalase quanto as espécies inoculadas pode ser  
21 explicada pela maior agressividade que *M. enterolobii* tem quando comparada a *M.*  
22 *incognita* e *M. javanica* (ROSA et al., 2015).

23 *P. oleracea* apresentou atividade da fenilalanina amônia liase (PAL) mesmo nas  
24 plantas controles ( $t_0$ ) dos tratamentos, não diferindo entre as espécies inoculadas,  
25 evidenciando que mesmo na ausência do patógeno é capaz de produzir metabólitos  
26 secundários uma das principais vias de defesa das plantas.

27 A PAL atua através da catalisação da reação de conversão de L-fenilalanina em  
28 amônia e ácido *trans*-cinâmico (HERRMANN; WEAVER, 1999). O ácido *trans*-  
29 cinâmico pode ser incorporado em diferentes compostos como, por exemplo, ácido 4-  
30 coumárico, ácido cafeico, ácido ferúlico e ácido sinápico, todos esses envolvidos para a  
31 formação de coumarinas, ésteres, e flavonoides (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008).

32 Estudos já provaram que os teores de flavonoides em *P. oleracea* variam de acordo  
33 com as partes da planta, as maiores quantidades são encontradas nas raízes, seguidas  
34 pelo caule e por fim, as folhas (ZHOU et al., 2015). Os flavonoides e fenóis possuem

1 importante função nas respostas de defesa das plantas sobre os patógenos, atuando no  
2 processo de sobrevivência ou agindo como repelente/inibidor dos J<sub>2</sub> de *M. incognita*  
3 (MAHAJAN et al., 1992; NICHOLSON; HAMMERSCHIMIDT, 1992).

4 Além da regulação da síntese de compostos fenólicos, a PAL atua como precursora  
5 da lignina e do ácido salicílico (BONAS; LAHAYE, 2002). A lignina aumenta a  
6 resistência física da parede celular das plantas, dificultando a penetração e como  
7 consequência reduz a suscetibilidade ao ataque ao ataque (FORMENTINI, 2012). O  
8 ácido salicílico é um constituinte significativo nas respostas de defesa das plantas aos  
9 nematoides do gênero *Meloidogyne*, sendo mediadas pelo gene *Mi-1* em tomateiros  
10 resistentes (BRANCH et al., 2004).

11 Os resultados deste trabalho possibilitam um maior conhecimento acerca da relação  
12 entre *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii* e *P. oleracea* indicando ser uma planta  
13 não hospedeira dos nematoides das galhas através da produção de compostos fenólicos,  
14 em especial, a fenilalanina amônia liase. Por apresentar produção de compostos  
15 fenólicos até mesmo nas plantas controles, *P. oleracea* é um indicativo de uma boa  
16 planta antagonista aos nematoides das galhas.

17

18

19

## 1 **Agradecimentos**

2 Os autores agradecem ao CNPq pelo financiamento da bolsa em todo período de  
3 pesquisa e a Embrapa – Agroenergia, pelo espaço cedido para o desenvolvimento da  
4 pesquisa.

5

6

## 1 Referências Bibliográficas

- 2 Baker, J. 2002. Durability of resistance against potato cyst nematodes. *Euphytica*, 124:  
3 157-162.  
4
- 5 Barbosa, M. R., Silva, M. M. A., Willadino, L., Ulisses, C., and Camara, T. R. 2014.  
6 Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas.  
7 *Ciência Rural*, 44:453-460.  
8
- 9 Belair, G., and Benoit, D. L. 1996. Host susceptibility of 32 common weeds to  
10 *Meloidogyne hapla* in organic soils of southwestern Quebec. *Journal of Nematology*,  
11 28:643-647.  
12
- 13 Bonas, U., and Lahaye, T. 2002. Plant disease resistance triggered by pathogen-derived  
14 molecules: refined models of specific recognition. *Current Opinion in Microbiology*,  
15 5:44-50.  
16
- 17 Bonetti, J. I. S., and Ferraz, S. 1981. Modificações do método de Hussey & Barker para  
18 extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*,  
19 6:553.  
20
- 21 Branch, C., Hwang, CF., Navarre, D. A., and Williamson, V. M. 2004. Salicylic  
22 acid is part of the Mi-1-mediated defense response to root-knot nematode in  
23 tomato. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17:351-356.  
24
- 25 Brito, J. A., Kaur, R., Cetintas, R., Stanley, J. D., Mendes, M. L., McAvoy, E. J.,  
26 Powers, T. O., and Dickson, D. W. 2008. Identification and characterization of  
27 *Meloidogyne* spp. infecting horticultural and agronomic crops, and weeds in Florida.  
28 *Nematology*, 10:757-766.  
29
- 30 Byrd, D. W., Kirkpatrick, T. JR., and Barker, K. R. 1983. An improved technique for  
31 clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. *J. Nematolog.*, 15:142-  
32 143.  
33
- 34 Carneiro, R. M. D. G., and Almeida, M. R. A. 2001. Técnica de eletroforese usada no  
35 estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. *Nematol.*  
36 *Bras.*, 25:35-44.  
37
- 38 Castagnone-Sereno, P., Danchin, E. G. J., Perfus-Barbeoch, L., and Abad, P. 2013.  
39 Diversity and Evolution of Root-Knot Nematodes, Genus *Meloidogyne*: New Insights  
40 from the Genomic Era. *Annu Revi Phytopathol.*, 51:10.1-10.18.  
41
- 42 Coolen, W. A., and D'Herde, C. J. 1972. A method for the quantitative extration of  
43 nematodes from plant tissue. State Agriculture Research Center – Ghent, Belgium.  
44
- 45 Costa, F. P., Gomes, M. A. C., Bizzo, A. L. T., and Vitória, A. P. 2014. Ação da  
46 catalase na tolerância de plantas de *Eichhornia crassipes* a  $Cr^{+3}$ . in: CONGRESSO  
47 FLUMINENSE DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA: O CAMINHO  
48 PARA INOVAÇÃO, 6, Campos dos Goitacases. Anais... Campos de Goitacases:  
49 UENF, 2014.  
50

- 1 Danin, A., and Reyes-Betancourt, J. A. 2006. The status of *Portulaca oleracea* in  
2 Tenerife, the Canary Islands. *Lagascalia*, 6:71-81.  
3
- 4 El-Beltagi, H. S., Farahat, A. A., Alsayed, A. A., and Mahfoud, N. A. 2012. Response  
5 of Antioxidant Substances and Enzymes Activities as a Defense Mechanism Against  
6 Root-Knot Nematode Infection. *Not. Bot. Horti. Agrobi.*, 40:132-142.  
7
- 8 Fragoso, R. R., Lourenço, I. T., Viana, A. A. B., Souza, D. S. L., Andrade, R. U.,  
9 Mehta, A., Brasileiro, A. C. M., Pinto, E. R. C., Lima, L. M., Rocha, T. L. and Sa, M. F.  
10 G. Interação molecular planta – nematoide. Embrapa Cerrados, 2007, 56 p.  
11 (Documentos, 198).  
12
- 13 Fontes, J. R. A., Shiratsuchi, L. S., Neves, J. L., Júlio, L., and Filho, J. S. 2013. Manejo  
14 de plantas daninhas. Embrapa Cerrados, 48p. (Documentos, 2013).  
15
- 16 Giannopolitis, C. N., and Ries, S. K. 1977. Superoxide dismutase I: Occurrence in  
17 higher plants. *Plant Physiol.*, 59:309-314.  
18
- 19 Gill, S. S., and Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in  
20 abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.*, 48:909–930.  
21
- 22 Hartman, K. M., and Sasser, J. N. 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the  
23 basis of differential host test and perineal patterns morphology. Pages: 69-77. in: An  
24 advanced treatise on Meloidogyne. Barker, K. R., Carter, C. C., and Sasser, J. N., ed.  
25 North Carolina State University Graphics, Raleigh, NC.  
26
- 27 Havir, E. A., and McHale, N. A. 1987. Biochemical and developmental characterization  
28 of multiple forms of catalase in tobacco-leaves. *Plant Physiol.*, 84:450-455.  
29
- 30 Herrmann, K. M., and Weaver, L. M. 1999. The shikimate pathway. *Annu. Rev. Plant*  
31 *Physiol. Plant Mol. Biol.*, 50:473–503.  
32
- 33 Hussey, R. S., and Barker, K. R. 1973. A comparison of methods collecting inocula of  
34 *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Reporter*, 57:1025-1028.  
35
- 36 Locato, V., Pinto, M. C., Paradisoand, A., and De Gara, L. 2010. Reactive oxygen  
37 species and ascorbate-395 glutathione interplay in signaling and stress responses. Pages:  
38 45-64. In: Reactive oxygen species and antioxidants 396 in higher plants. Gupta, S. D.  
39 ed. Science Publishers: Enfield, LDN.  
40
- 41 Mahajan, R., Kaur, D. J., and Bajaj, K. L. 1992. Nematicidal activity of phenolic  
42 compounds against *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Mediterranea*, 20:217-219.  
43
- 44 Mani, A., and Hinai, M. A. 1996. Host range and distribution of *Meloidogyne incognita*  
45 and *M. javanica* in the Sultanate of Oman. *Nematropica*, 26:73-79.  
46
- 47 Mori, T., Sakurai, M., and Sakuta, M. 2001. Effects of conditioned medium on activities  
48 of PAL, CHS, DAHP synthase (DS-Co and DS-Mn) and anthocyanin production in  
49 suspension cultures of *Fragaria ananassa*. *Plant Sci.*, 160:355-360.  
50

- 1 Moura, R. M., and Regis, E. M. O. 1987. Reações de feijoeiro comum (*Phaseolus*  
2 *vulgaris*) em relação ao parasitismo de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*  
3 (Nematoda: Heteroderidae). *Nematol. Bras.*, 10:215-225.  
4
- 5 Murashige, T., and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays  
6 with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plant.*, 15:473-497.  
7
- 8 Nakano, Y., and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific  
9 peroxidases in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiol.*, 22:867-880.  
10
- 11 Nguyen, G. N., Hailstones, D. L., Wilkes, M., and Sutton, B. G. 2009. Drought induced  
12 oxidative conditions in rice anthers leading to a programmed cell death and pollen  
13 abortion. *J. Agron. Crop Sci.*, 195:157-164.  
14
- 15 Nicholson, R. L., and Hammerschmidt, R. 1992. Phenolic compounds and their role in  
16 disease resistance. *Annu. Rev. Plant Pathol.*, 107:19-28.  
17
- 18 Oostenbrink, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and  
19 plants. *Mededelingen Van de landbouwhogeschool*, 66:1-46.  
20
- 21 Pinheiro, J. B., Carvalho, A. D. F., and Vieira, J. V. 2010. Manejo do nematoide-das-  
22 galhas (*Meloidogyne* spp.) em cultivos de cenoura na região de Irecê-BA. Brasília – DF:  
23 Embrapa Hortaliças, (Comunicado Técnico, 77).  
24
- 25 Pascholati, S. F. 2011. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos  
26 patógenos. Pages 593-636. in: *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos*.  
27 AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A., ed. Agronômica  
28 Ceres:Piracicaba, SP.  
29
- 30 R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R  
31 Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL do Site: [https://www.R-](https://www.R-project.org/)  
32 [project.org/](https://www.R-project.org/).  
33
- 34 Rosa, J. M. O., Westerich, J. N, and Wilcken, S. R. S. 2015. Reprodução de  
35 *Meloidogyne enterolobii* em olerícolas e plantas utilizadas na adubação verde. *Revista*  
36 *Ciência Agronômica*, 46:826-835.  
37
- 38 Schawan-Estrada, K. R. F., Stangarlin, J. R., and Pascholati, S. F. 2008. Mecanismos  
39 bioquímicos de defesa vegetal. Pages: 227-248. in: *Interação Planta Patógeno –*  
40 *fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular*. Pascholati, S. F., Leite, B., Stangarlin, J.  
41 R., and Cia, P. ed. FEALQ: Piracicaba, SP.  
42
- 43 Sellami, S., Lounici, M., Eddoud, A., and Benseghir, H. 1999. Distribution et plantes  
44 hotes associees aux *Meloidogyne* sous abris plastiques en Algerie. *Nematologia*  
45 *Mediterranea*, 27:295-301.  
46
- 47 Serkedjieva, J. 2011. Antioxidant effects of plant polyphenols: a case study of a  
48 polyphenol-rich extract from *Geranium sanguineum* L. Pages: 275-293. in: *Reactive*  
49 *oxygen species and antioxidants in higher plants*. GUPTA, S.D. ed. Science Publishers:  
50 Enfield, LDN.

- 1  
2 Silva, G. S. 2011. Métodos alternativos de controle de fitonematoides. Revisão Anual  
3 de Patologia de plantas – RAPP, 19:81-118.  
4
- 5 Taylor, A. L., and Sasser, J. N. 1978. Biology, identification and control of root-knot  
6 nematodes (*Meloidogyne* species). North Caroline State University, Raleigh, NC.  
7
- 8 Tedford, E. C., and Fortnum, B. A. 1988. Weed hosts of *Meloidogyne arenaria* and *M.*  
9 *incognita* common in tobacco fields in South Carolina. Journal of Nematology, 20:102-  
10 105.  
11
- 12 Trudgill, D. L., and Blok, V. C. 2001. Apomitic, polyphagous root-knot nematodes:  
13 exceptionally sucessfull and damaging biotrophic root pathogens. Annu. Rev.  
14 Phytopathol., 39:53-77.  
15
- 16 Uddin, M. K., Juraimi, A. S., Hossain, M. A., Anwar, F., and Alam, M. A. 2012. Effect  
17 of salt stress of *Portulaca oleracea* on antioxidant properties and mineral compositions,  
18 Australian Journal of Crop Science, 6:1732–1736.  
19
- 20 Uddin, M. K., Jurami, A. S., Hossain, M. S., Nahar, M. A. U., Ali, M. E., and Rahman,  
21 M. M. 2014. Purslane weed (*Portulaca oleracea*): A prospective plant source of  
22 nutrition, Omega-3 fatty acid, and antioxidant attributes. The Scientintific World  
23 Journal, 2014:1-6.  
24
- 25 Walker, G. E., Cobon, J., and Nobbs, J. 2002. New Australian record for *Meloidogyne*  
26 *javanica* on *Portulaca oleracea*. Australasian Plant Pathology, 31:301.  
27
- 28 Zhou, YX., Xin, HL., Rahman, K., Wang, SJ., Peng, C., and Zhang, H. 2015. *Portulaca*  
29 *oleracea* L.: A review of phytochemistry and pharmacological effects. BioMed  
30 Research International, 2015:1-12.  
31



1 **Tabela 1.** Valor de F na análise de variância com medida repetida no tempo para as  
 2 variáveis *PFPA*, *Biomassa*, *Água* e *PFSR* analisadas no estudo do parasitismo de *M.*  
 3 *incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*. em *P. oleracea*.

<b>F.V<sup>a</sup></b>	<b>GL<sup>b</sup></b>	<b><i>PFPA</i><sup>c</sup></b>	<b><i>Biomassa</i><sup>d</sup></b>	<b><i>Água</i><sup>e</sup></b>	<b><i>PFSR</i><sup>f</sup></b>
Esp.	2	0,59 <sup>ns</sup>	2,04 <sup>ns</sup>	6,84*	5,66*
Trat.	1	0,95 <sup>ns</sup>	0,38 <sup>ns</sup>	0 <sup>ns</sup>	4,31*
Resíduo	26				
Tempo	2	68,75**	11,60**	0,02 <sup>ns</sup>	69,44**
Tempo x Esp.	4	1,18 <sup>ns</sup>	7,83**	16,22**	1,53 <sup>ns</sup>
Tempo x Trat.	2	0,58 <sup>ns</sup>	0,17 <sup>ns</sup>	0,35 <sup>ns</sup>	1,45 <sup>ns</sup>
Resíduo	52				

4 <sup>a</sup>F.V= fonte de variação; <sup>b</sup>GL= graus de liberdade; <sup>c</sup>*PFPA* = peso fresco da parte aérea  
 5 (g); <sup>d</sup>*Biomassa*= biomassa ou peso seco da parte aérea (g); <sup>e</sup>*Água*= porcentagem de água  
 6 nas plantas (%); <sup>f</sup>*PFSR*= peso fresco do sistema radicular (g); \* Significância ao nível  
 7 de 5% de probabilidade; \*\* Significância ao nível de 1% de probabilidade; <sup>ns</sup> Valores  
 8 não significativos pelo teste F.

9

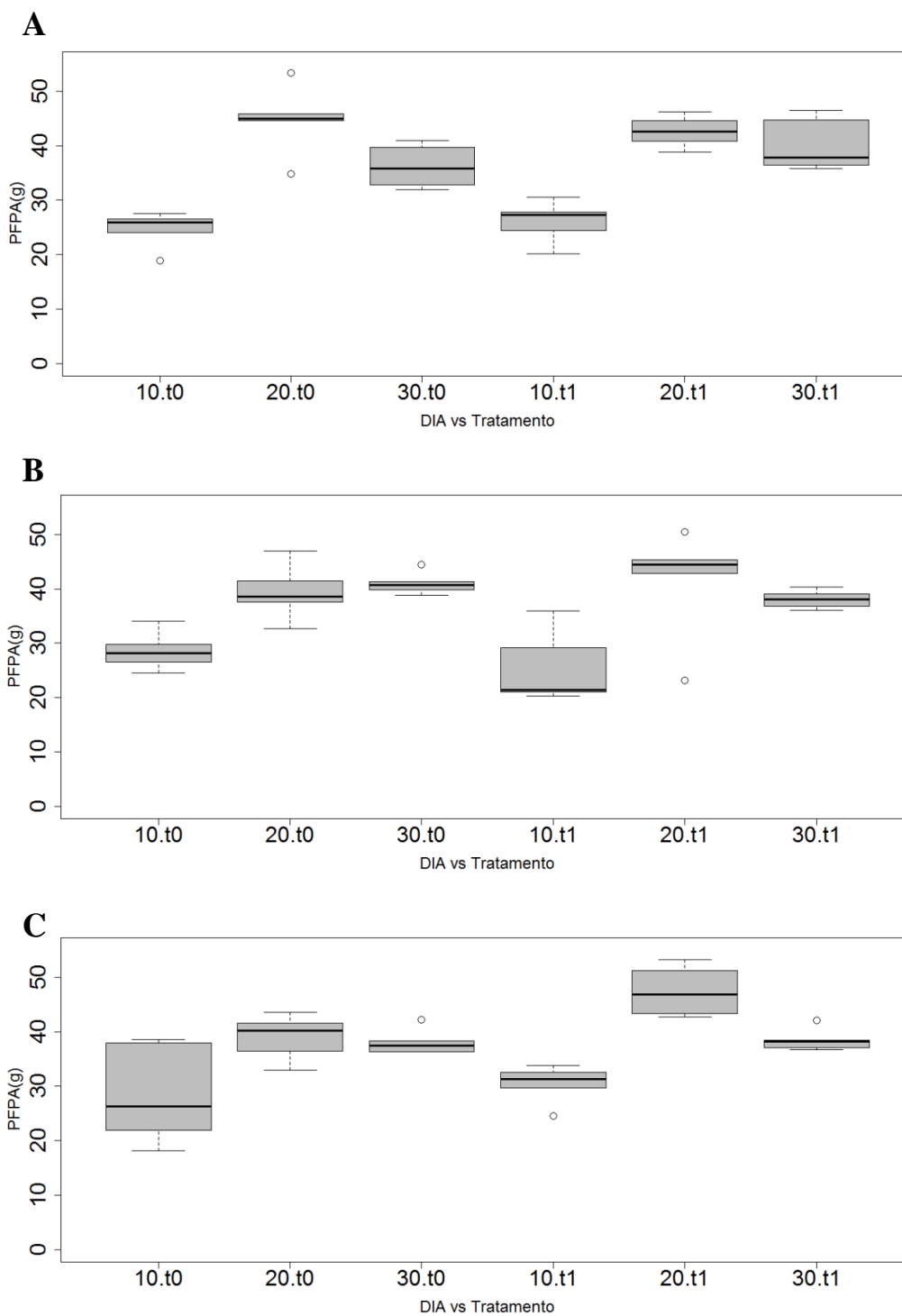
10

1 **Tabela 2.** Valor de F na análise de variância com medida repetida no tempo para as  
 2 enzimas antioxidantes APX, CAT e PAL analisadas no estudo do parasitismo de *M.*  
 3 *incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*. em *P. oleracea*.

<b>F.V<sup>a</sup></b>	<b>GL<sup>b</sup></b>	<b>APX<sup>c</sup></b>	<b>CAT<sup>d</sup></b>	<b>PAL<sup>e</sup></b>
Esp.	2	3,27 <sup>ns</sup>	7,32**	0,44 <sup>ns</sup>
Trat.	1	0,26 <sup>ns</sup>	0,28 <sup>ns</sup>	28,98**
Resíduo	14			
Tempo	1	49,39**	102,38**	11,3**
Tempo x Esp.	2	2,51 <sup>ns</sup>	3,65 <sup>ns</sup>	0,17 <sup>ns</sup>
Tempo x Trat.	1	0,27 <sup>ns</sup>	2,27 <sup>ns</sup>	0,73 <sup>ns</sup>
Resíduo	14			

4 <sup>a</sup>F.V= fonte de variação; <sup>b</sup>GL= graus de liberdade; <sup>c</sup>APX= atividade da peroxidase do  
 5 ascorbato ( $\mu\text{mol ASA mg}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{MF}$ ); <sup>d</sup>CAT = atividade da catalase ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{min}^{-1}$   
 6  $\text{mg}^{-1} \text{MF}$ ); <sup>e</sup>PAL= atividade da fenilalanina amônia liase ( $\mu\text{mol ácido cinâmico mg}^{-1} \text{mg}$   
 7  $^{-1} \text{MF}$ ); \* Significância ao nível de 5% de probabilidade; \*\* Significância ao nível de  
 8 1% de probabilidade; <sup>ns</sup> Valores não significativos pelo teste F.

9



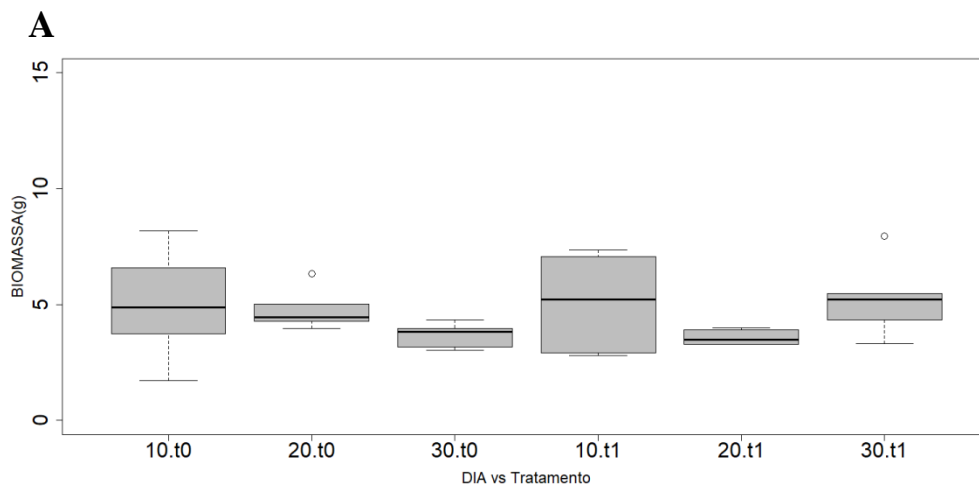
1

2

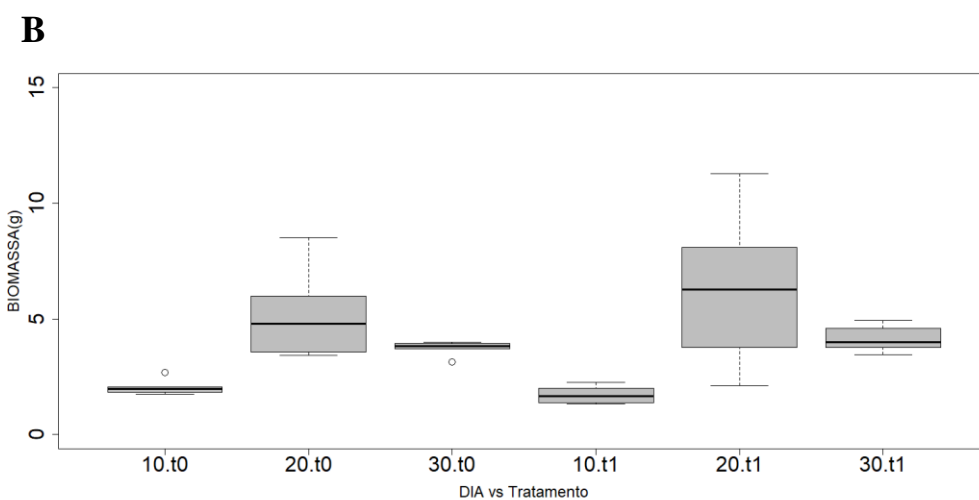
3

4 **Figura 1.** Peso fresco da parte aérea (PFPA) (g) de *P. oleracea* em relação aos dias de  
5 avaliação (10, 20 e 30 DAI) e aos tratamentos aplicados (t0, t1 e t2), **A**, Plantas  
6 inoculadas com *M. incognita*, **B**, Plantas inoculadas com *M. javanica*, **C**, Plantas  
7 inoculadas com *M. enterolobii*.

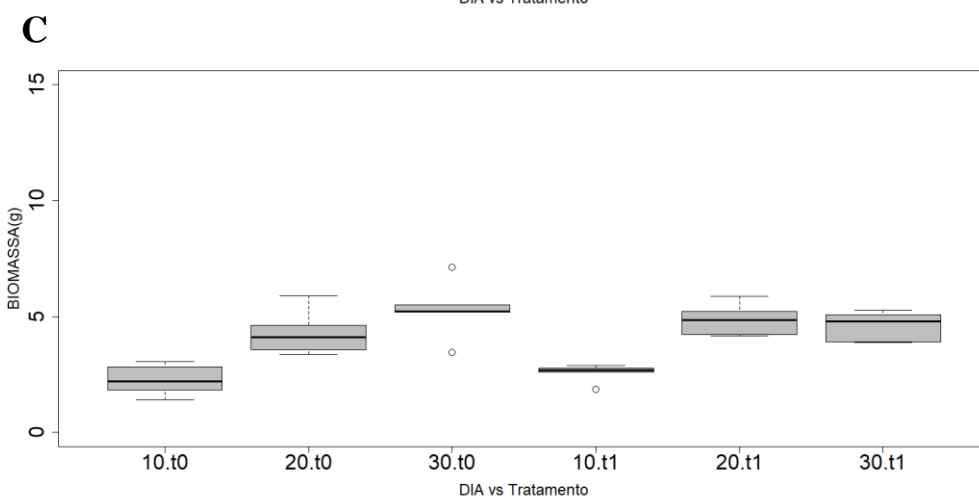
8



1



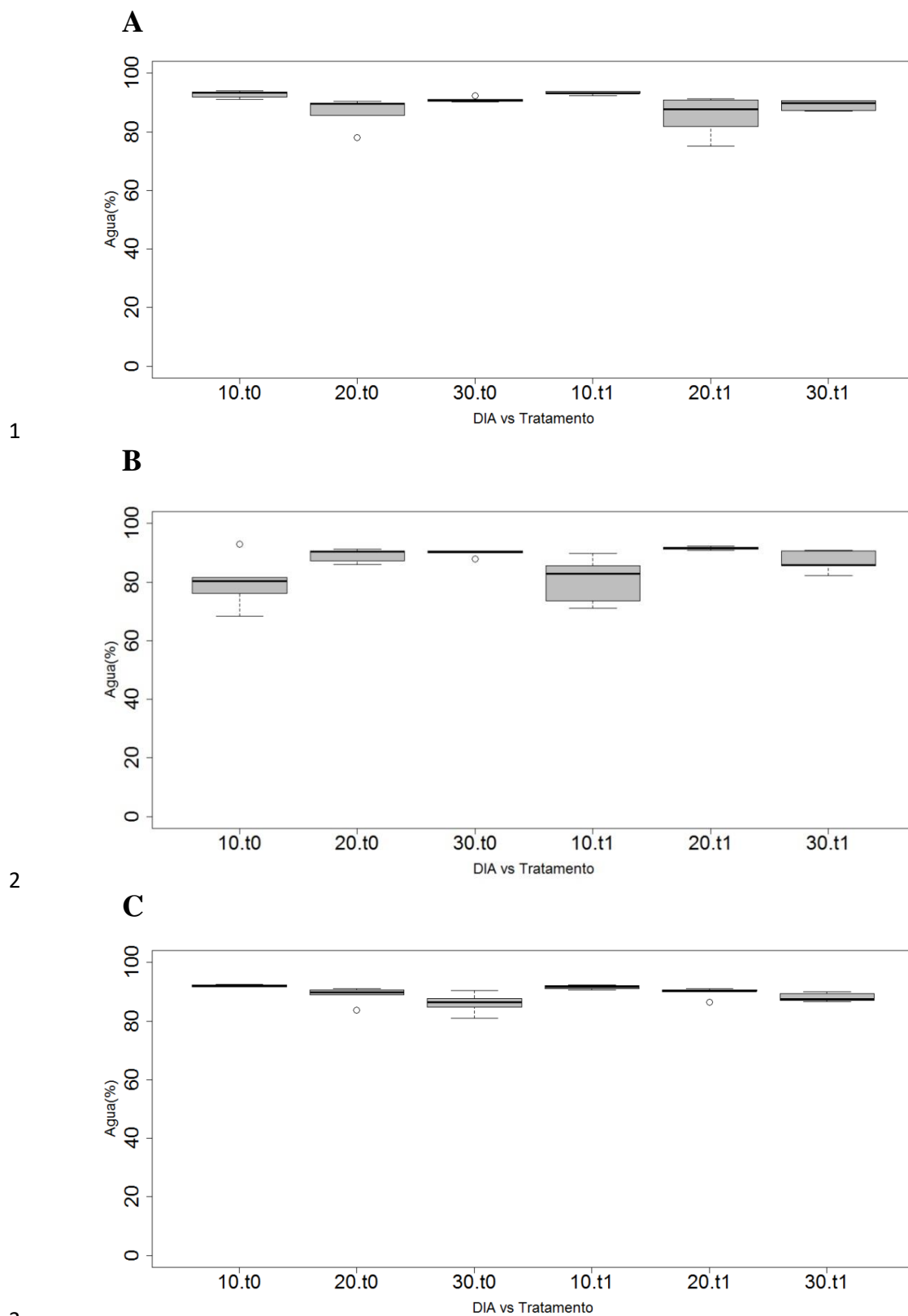
2



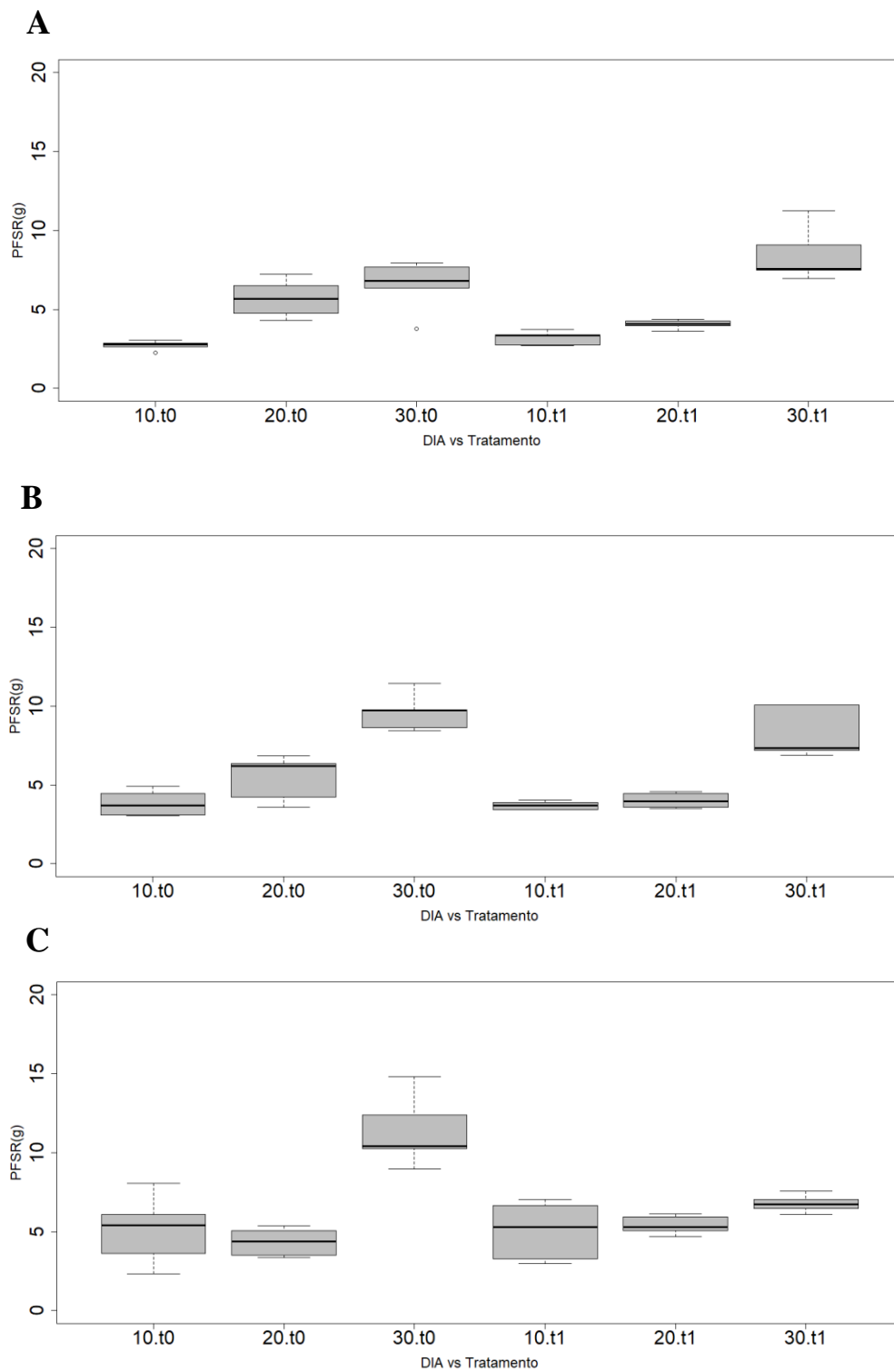
3

4 **Figura 2.** Peso seco da parte aérea (*Biomassa*) (g) de *P. oleracea* em relação aos dias de  
 5 avaliação (10, 20 e 30 DAI) e aos tratamentos aplicados (t0, t1 e t2), **A**, Plantas  
 6 inoculadas com *M. incognita*, **B**, Plantas inoculadas com *M. javanica*, **C**, Plantas  
 7 inoculadas com *M. enterolobii*.

8



4 **Figura 3.** Porcentagem de água (Água) (%) de *P. oleracea* em relação aos dias de  
5 avaliação (10, 20 e 30 DAI) e aos tratamentos aplicados (t0, t1 e t2), **A**, Plantas  
6 inoculadas com *M. incognita*, **B**, Plantas inoculadas com *M. javanica*, **C**, Plantas  
7 inoculadas com *M. enterolobii*.



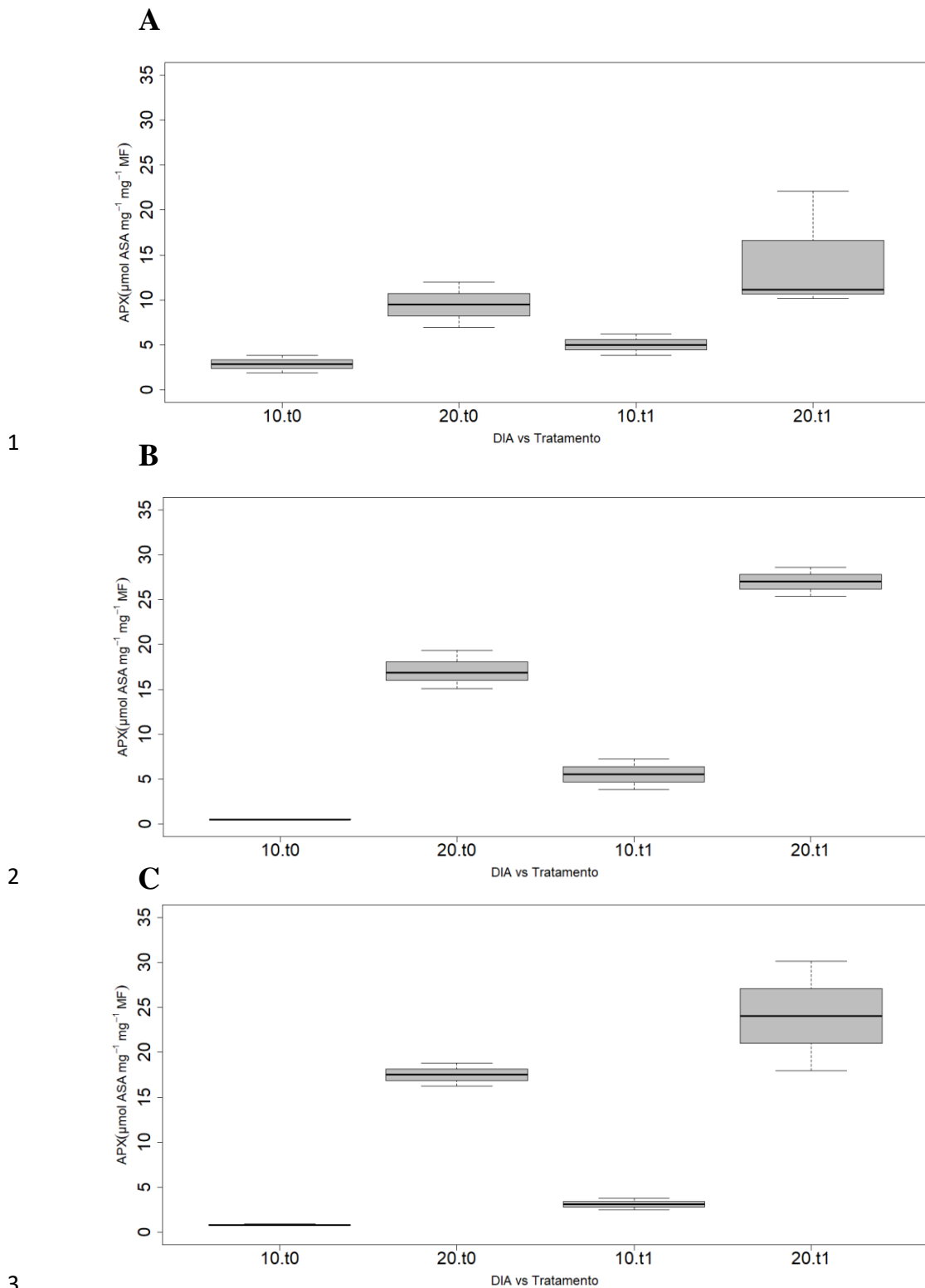
1

2

3

4 **Figura 4.** Peso fresco do sistema radicular (*PFSR*) (g) de *P. oleracea* em relação aos  
5 dias de avaliação (10, 20 e 30 DAI) e aos tratamentos aplicados (t0, t1 e t2), **A**, Plantas  
6 inoculadas com *M. incognita*, **B**, Plantas inoculadas com *M. javanica*, **C**, Plantas  
7 inoculadas com *M. enterolobii*.

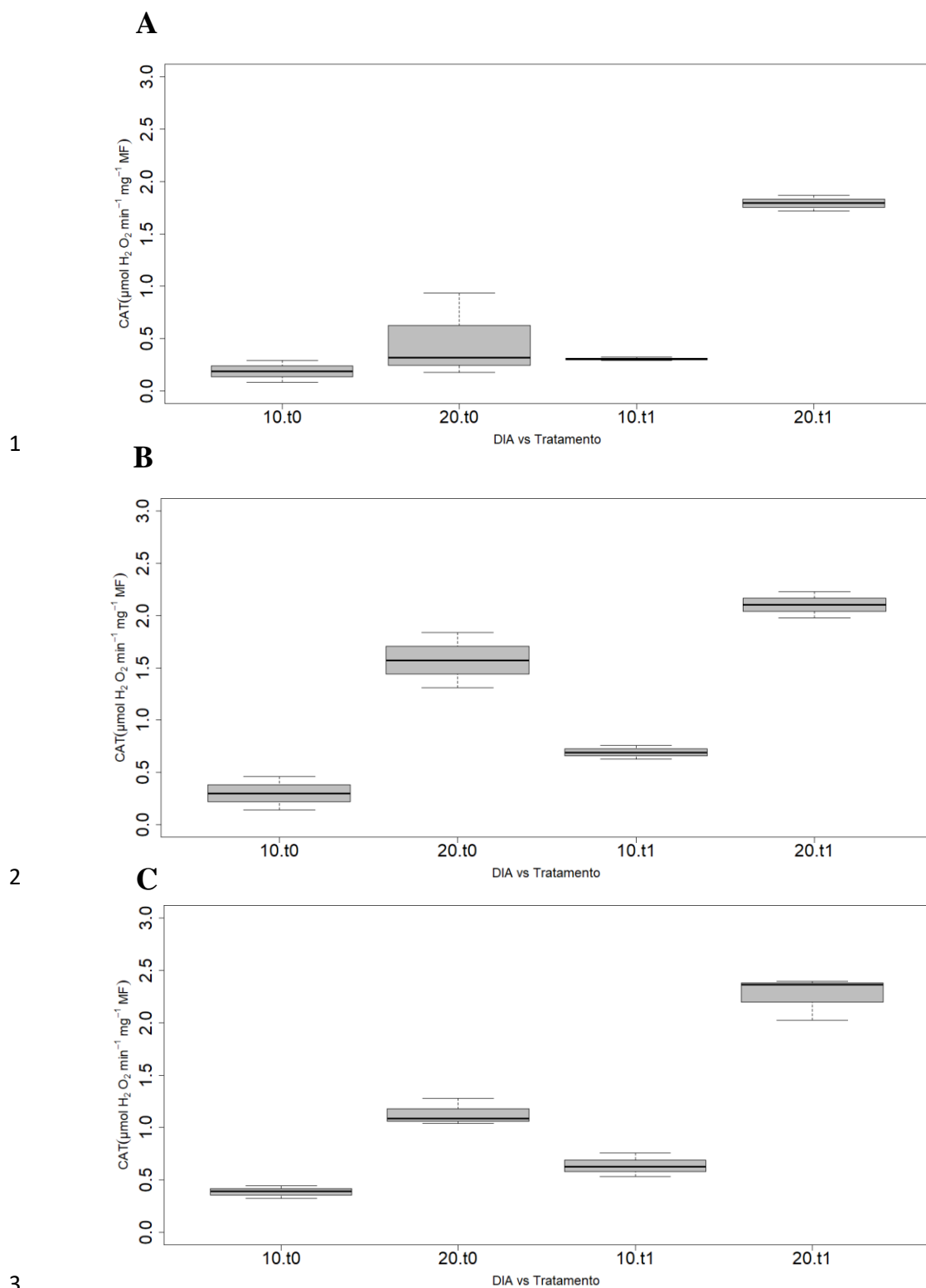
8



4 **Figura 5.** Atividade da *peroxidase do ascorbato* (APX) ( $\mu\text{mol ASA mg}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{MF}$ ) de  
 5 *P. oleracea* em relação aos dias de avaliação (10, 20 e 30 DAI) e aos tratamentos  
 6 aplicados (t0, t1 e t2), **A**, Plantas inoculadas com *M. incognita*, **B**, Plantas inoculadas  
 7 com *M. javanica*, **C**, Plantas inoculadas com *M. enterolobii*.

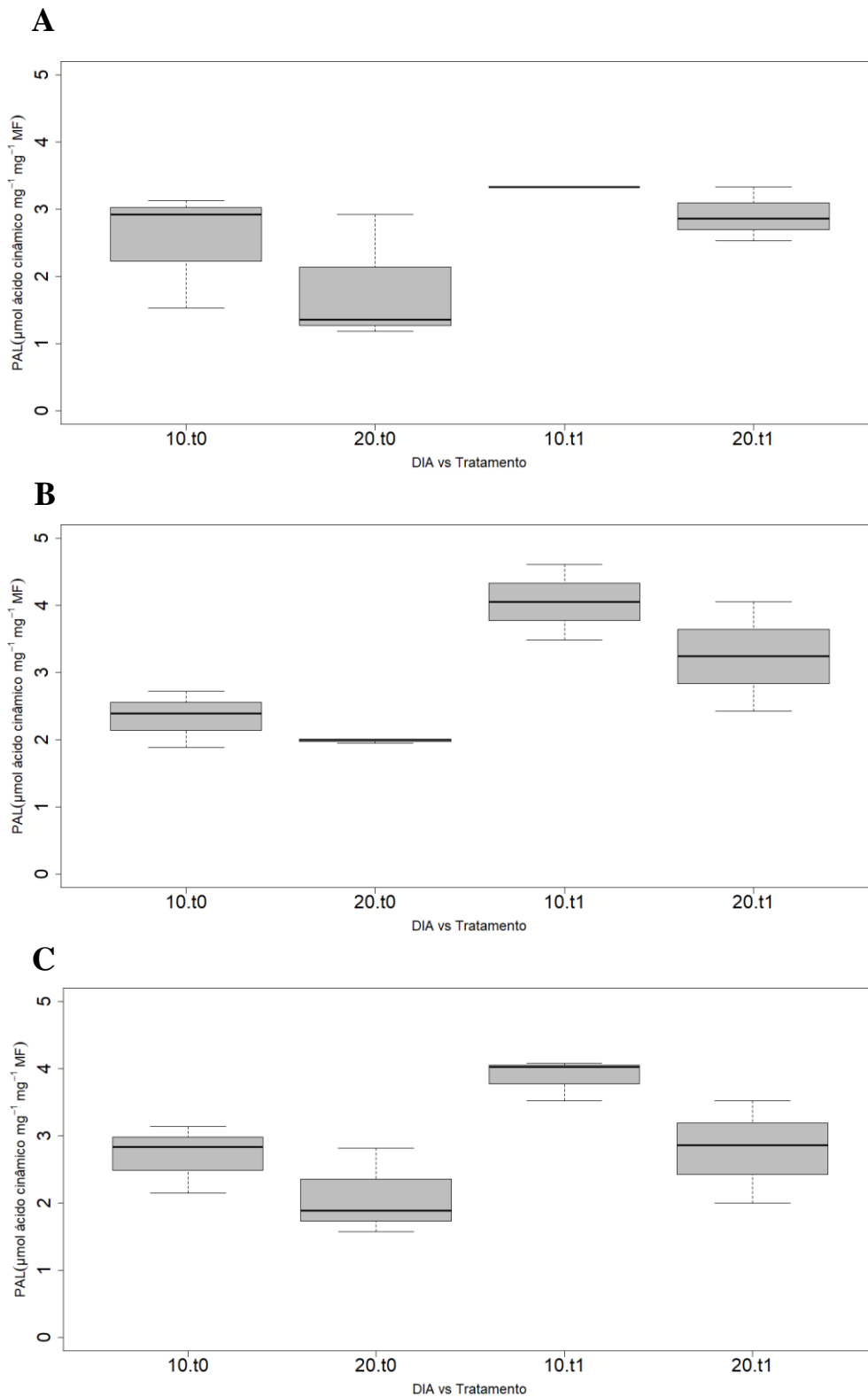
8

9



**Figura 6.** Atividade da *catalase* (CAT) ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ MF}$ ) de *P. oleracea* em relação aos dias de avaliação (10, 20 e 30 DAI) e aos tratamentos aplicados (t0, t1 e t2), **A**, Plantas inoculadas com *M. incognita*, **B**, Plantas inoculadas com *M. javanica*, **C**, Plantas inoculadas com *M. enterolobii*.





**Figura 7.** Atividade da *fenilalanina amônia liase* (PAL) ( $\mu\text{mol}$  ácido cinâmico  $\text{mg}^{-1}$   $\text{mg}^{-1}$  MF) de *P. oleracea* em relação aos dias de avaliação (10, 20 e 30 DAI) e aos tratamentos aplicados (t0, t1 e t2), **A**, Plantas inoculadas com *M. incognita*, **B**, Plantas inoculadas com *M. javanica*, **C**, Plantas inoculadas com *M. enterolobii*.

**CAPITULO IV**

---

## CONCLUSÕES GERAIS

- *Setaria viridis*, acesso A10.1, apresentou imunidade (FR=0) ao parasitismo de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*;
- O comportamento de não hospedeira de *S. viridis* acesso A10.1 a desqualifica como planta modelo para ser utilizada futuramente na busca de genes de resistência visando o controle dessas espécies dos nematoides do gênero *Meloidogyne*.
- A produção de composto fenólicos é um indicativo que *S. viridis* acesso A10.1 é uma planta antagônica promissora;
- *Potulaca oleracea*, acesso B1, apresentou imunidade (FR=0) ao parasitismo de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*;
- A produção de composto fenólicos é um indicativo que *P. oleracea* acesso B1 é um indicativo que beldroega acesso B1 possa ser utilizado como planta antagonista;
- Mais estudos são necessários acerca dos compostos químicos já evidenciados em *S. viridis* (acesso A10.1) e *P. oleracea* (acesso B1) quando parasitadas pelas espécies *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*.