

MARLUCI MUNDIN ABRÃO

ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS NO ALGODOEIRO
CAUSADAS PELO NEMATÓIDE *Meloidogyne*
incognita raça 3: INFLUÊNCIA DO NÍVEL DE
INÓCULO E DO FORNECIMENTO DE NITROGÊNIO

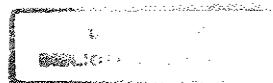
Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo (a) candidato (a)
Marluci Mundin Abrão
e aprovada pela Comissão Julgadora.

04/03/98

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biologia da
Universidade Estadual de
Campinas, para a obtenção do
título de Mestre em Ciências
Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Mazzafera

Campinas - SP
1998



UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	
	T. Unicamp
	Ab 84a
V.	
	Ex
TOMBO BC/	35646
PROC.	395/98
C	<input type="checkbox"/>
	D <input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	28/10/98
N.º CPD	

CM-00117918-5

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL DA UNICAMP

Ab84a

Abrão, Marlucci Mundin

Alterações fisiológicas no algodoeiro causadas pelo nematóide *Meloidogyne incognita* raça 3 : influência do nível de inóculo e fornecimento de nitrogênio / Marlucci Mundin Abrão. -- Campinas, SP : [s.n.], 1998.

Orientador: Paulo Mazzafera.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia.

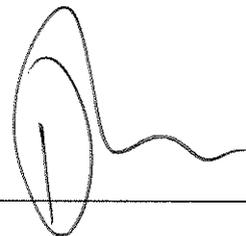
1. Nematoda em plantas. 2. Algodão - Doenças e pragas. 3. Nitrogênio. 4. Açúcar. 5. Fotossíntese. 6. Clorofila. I. Mazzafera, Paulo. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Campinas, 4 de Março 1998

BANCA EXAMINADORA

Titulares:

Dr. Paulo Mazzafera (Orientador)



Assinatura

Dr^a. Marlene A Schiavinato



Assinatura

Dra. Marinez Muraro Alves de Lima



Assinatura

Suplente:

Dr. Jorge Vega



Assinatura

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Paulo Mazzafera, pela orientação e auxílio na elaboração desta tese.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pelo auxílio financeiro.

Ao Prof. Dr. Leandro Ferreira de Aguiar da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, pelo incentivo e confiança.

Aos Professores Ivany Válio, Marlene A. Schiavinato e Jorge Vega pela revisão criteriosa da tese.

Aos Pesquisadores Marinez Muraro Alves de Lima e Rui Gomes Carneiro, pelos ensinamentos básicos sobre nematologia.

À Seção de Algodão do Instituto Agrônomo de Campinas, pelo fornecimento das sementes de algodão.

Ao Instituto Agrônomo do Paraná, na pessoa do Pesquisador Rui Gomes Carneiro, e Seção de Genética do Instituto Agrônomo de Campinas, na pessoa da Dra Marinez Muraro Alves de Lima, pelo fornecimento do inóculo inicial de *M. incognita* raça 3.

Aos meus pais, Antonio e Ilda pela dedicação e confiança.

A todos os amigos do Departamento de Fisiologia Vegetal da Unicamp, que me ajudaram diretamente ou indiretamente neste trabalho.

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese
aos meus pais e irmãos

ÍNDICE

Resumo	i
Summary.....	iii
1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	12
3. Material e Métodos.....	13
4. Resultados.....	20
5. Discussão.....	35
6. Conclusões.....	49
7. Literatura Citada.....	50

RESUMO

Plantas de algodão (*Gossypium hirsutum*) dos cultivares Acala (suscetível) e IAC-20 (tolerante) foram avaliadas quanto ao crescimento e variações no conteúdo de açúcares solúveis, fenóis e clorofilas, e na atividade da redutase do nitrato, quando inoculadas com diferentes níveis de inóculo (0, 500 e 5.000 ovos) de *Meloidogyne incognita* raça 3, ou quando inoculadas com apenas um nível, mas recebendo quantidades diferentes de duas fontes (nitrato e amônia) de nitrogênio.

No primeiro experimento, no qual avaliaram-se as respostas a diferentes níveis de infecção, observou-se que o cultivar Acala é bastante suscetível e o cultivar IAC-20 é moderadamente resistente. Plantas inoculadas com 500 ovos ficaram mais altas e apresentaram maior acúmulo de massa seca na parte aérea e raízes. Também houve aumento da taxa fotossintética com a inoculação, ocorrendo o mesmo com a atividade da redutase do nitrato e o conteúdo de clorofila. As plantas inoculadas também foram submetidas a estresse hídrico controlado e foi determinado o potencial da água nas folhas. Nas plantas do cultivar Acala mediu-se potenciais da água maiores com o aumento do nível do inóculo. O contrário ocorreu com IAC-20.

No experimento 2, no qual as plantas receberam diferentes fontes de N e em diferentes doses (água, solução de Hoagland sem N, Hoagland 1xN-NO₃, Hoagland 3xN-NO₃,

Hoagland 1xN-NH₄, Hoagland 3xN-NH₄), também o cultivar IAC-20 mostrou-se bastante tolerante, ocorrendo o oposto com o cultivar Acala, independente da fonte e quantidade de nitrogênio utilizada. Os aumentos de massa seca de raízes e parte aérea repetiram-se, de certa forma. Além disso, houve resposta à adubação nitrogenada em função da quantidade aplicada, sendo observados os maiores aumentos nas plantas que receberam mais nitrogênio. Os teores de clorofila foram aumentados de acordo com o aumento de massa seca de folhas no cultivar Acala, sendo o aumento mais discreto quando a amônia era a fonte de N. O conteúdo de fenóis foi sempre maior nos tratamentos sem nitrogênio e água. A atividade da redutase do nitrato respondeu ao aumento do fornecimento de nitrogênio. No cultivar Acala, nitrato proporcionou maior atividade do que amônia. De modo geral, a infecção levou a maior atividade da redutase de nitrato, sendo isto muito mais pronunciado no IAC-20.

SUMMARY

Growth and variation in the contents of soluble sugars, phenols and chlorophyll, and nitrate reductase activity were determined in cotton plants (*Gossypium hirsutum*) of cv. Acala (susceptible) and cv. IAC-20 (tolerant) inoculated with eggs (0, 500 e 5.000) of *Meloidogyne incognita* race 3. In a second experiment the same parameters were also determined in plants inoculated with 7.500 eggs of the nematode, which were fertilized with different amounts of nitrate or ammonium as the N source.

In the first experiment it was determined that cvs. Acala and IAC-20 are, respectively, susceptible and tolerant to *M. incognita* race 3. Plants receiving 500 eggs were taller and accumulated more dry matter in the shoot and roots. They also showed increased values of photosynthesis, nitrate reductase activity and chlorophyll content. Inoculated plants were also subjected to controlled water stress and the leaf water potential determined with a pressure pump. Lower potentials were observed in the plants of cv. IAC-20, which increase in root dry matter was lower (12%) than plants of cv. Acala (52%).

In the second experiment the plants received: water, Hoagland solution without N, Hoagland 1xN-NO₃, Hoagland 3xN-NO₃, Hoagland 1xN-NH₄ or Hoagland 3xN-NH₄. Here, IAC-20 was also tolerant to the nematode, independently of the N source and the amount applied. Increases of dry matter of shoot and

roots were also observed for both cultivars. Plants receiving more N accumulated more dry matter. Chlorophyll content was enhanced in Acala plants by N fertilization, however, less when ammonium was used. Phenols were always higher in plants receiving only water or nutrient solution -N. Nitrate reductase activity increase with N application. In general, nematode infection induced higher enzyme activity, this being more pronounced in cv. IAC-20 and plants receiving nitrate.

1. INTRODUÇÃO

Os nematóides pertencem ao filo Nemata, proposto primeiro por Cobb, em 1919, e restabelecido por Chitwood, em 1958 (MONTEIRO et al., 1996). São organismos que vivem em águas marinhas, doces e películas de água do solo. A maioria é de vida livre e alimenta-se de microrganismos (bactérias, fungos, algas, protozoários, pequenas minhocas e nematóides), podendo ser considerados predadores ou comedores de animais carnívoros (MONTEIRO et al., 1996).

Alguns são parasitas de plantas superiores (fitoparasitas), tanto de órgãos subterrâneos (raízes, rizomas, tubérculos, bulbos e frutos hipógeos), como também de órgãos aéreos (caules, folhas, flores, frutos e sementes).

Os nematóides formadores de galhas radiculares, pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, constituem o grupo de fitonematóides com maior importância econômica. A sua distribuição em quase todo o mundo, o grande número de hospedeiros e a interação com outros organismos patogênicos os colocam entre os primeiros patógenos responsáveis pela limitação da produtividade agrícola mundial (SASSER, 1980; SASSER & CARTER, 1985).

Em 1887, Goeldi citou pela primeira vez o ataque de *Meloidogyne exigua* a raízes de café. Desde então, baixa produtividade em café devido a espécies de *Meloidogyne* tem sido verificada frequentemente no Brasil, provocando problemas econômicos (COSTA et al., 1991).

A espécie *Meloidogyne incognita* apresenta quatro raças distintas denominadas 1, 2, 3 e 4 (LORDELLO, 1986). TAYLOR & SASSER (1978) mostraram que a raça 1 não se reproduz em fumo cv. NC95 e em algodão, a raça 2 se reproduz em fumo cv. NC95, mas não em algodão, a raça 3 se reproduz em algodão, mas não em fumo; e a raça 4 se reproduz nas duas culturas, porém é a menos encontrada atacando plantas. Em termos de reprodução a raça 3 é a mais bem sucedida sobre o hospedeiro algodão (*Gossypium hirsutum*) do que a raça 4.

No algodão vários produtos são comercializados (algodão em caroço, algodão em pluma, caroço e línter). A pluma (fibra) representa o produto de maior valor econômico da cultura e, como tal, constitui o objeto principal da comercialização. A fibra de algodão apresenta múltiplas e variadas aplicações, em contraste com outras fibras têxteis. Os fios têm aplicação, além de para tecidos, em linhas de costura e bordado, fabricação de cordas, barbantes, confecção de ataduras, etc.

As regiões brasileiras de maior produtividade algodoeira são os Estados de São Paulo, Paraná e Minas Gerais, (GRIDI-PAPP et al., 1993).

Como os nematóides têm sido um grande problema na culturas do algodão, há um grande interesse em melhorar geneticamente os cultivares, tornando-os mais resistentes à infecção por estes parasitas.

SHEPHERD & HUCK (1989) mostraram que a infecção de *M. incognita* nas raízes de algodão resulta em ruptura da epiderme, do xilema e do tecido cortical, em resposta ao desenvolvimento das células gigantes e à formação de galhas. A formação dessas células gigantes ocorre quando a planta hospedeira é suscetível ao parasita. Os juvenis migram através do parênquima cortical por via inter e ou intracelular, terminando por localizar o corpo em posição paralela ao cilindro central e mergulhar a região anterior neste.

O juvenil injeta a secreção no interior do citoplasma das células vegetais, aproximadamente 3 a 10 células adjacentes à sua extremidade anterior. Em se tratando de hospedeiro favorável, tais células irão sofrer mudanças morfológicas e fisiológicas, e se transformarão nas chamadas células nutridoras ou células gigantes. Quando a planta infectada não é hospedeira da espécie de *Meloidogyne* envolvida, a inoculação da secreção não incitará a formação de células nutridoras e os juvenis, se ainda tiverem reservas energéticas para tanto, tentarão migrar de volta para o solo e buscar outra fonte de alimento. Há ainda plantas consideradas resistentes em cujas raízes os juvenis provocam a formação inicial das células nutridoras, mas estas degeneram-se prematuramente, tornando-se necróticas e levando o nematóide à morte, antes de completar o seu desenvolvimento. Nas plantas favoráveis ao parasita, as células inoculadas com saliva começam a aumentar de tamanho

e, após algum tempo, mostram-se claramente hipertrofiadas. Simultaneamente a essa alteração morfológica evidente, observa-se que o citoplasma apresenta-se anormalmente denso e granuloso, além de conter vários núcleos (encerrando nucléolos que se coram fortemente com safranina); normalmente, as paredes dessas células exibem multi-invaginações de formatos variáveis, porém uma plasmalema contínua. As numerosas invaginações encontradas no interior das células nutridoras tem levado os especialistas a considerá-las semelhantes em função às células de passagem, comumente observadas no xilema. Essas invaginações facilitam bastante o transporte de solutos por aumentarem a superfície da plasmalema. Portanto, as células nutridoras atuariam na verdade como "pontes", sendo as substâncias alimentares levadas ou transferidas até elas a partir das células vizinhas normais. Tal hipótese permitiria explicar o notável aumento da biomassa (da ordem de mil vezes) que se verifica durante o desenvolvimento do juvenil pré-parasita até a fêmea madura, ou seja, além do conteúdo total das células nutridoras, o parasita disporia ainda para o seu sustento de regular e apreciável suprimento de solutos transportados a partir das células sadias próximas (MONTEIRO et al., 1996).

Essa atuação das células nutridoras como escoadouro metabólico tem sido bem aceita, mas como ponderou BIRD (1979), nem sempre funcionam exatamente como as células de passagem convencionais; pelo contrário, conforme já verificado em alguns casos, células nutridoras incitadas por

espécie de *Meloidogyne* podem ter função metabólica oposta à das células de passagem típicas em plantas de um mesmo cultivar, sob idênticas condições ambientais.

Entretanto, determinações quantitativas dos teores de substâncias químicas no interior das células nutridoras exigem metodologia sofisticada. Por isso, tais estudos ainda são poucos. BIRD (1961) mostrou que os citoplasmas das células gigantes contém carboidratos, gordura, ácido ribonucléico e dez vezes mais proteína do que células normais.

GOMMERS & DROPKIN (1977) verificaram que células nutridoras formadas em soja continham quatro vezes mais glicose e o teor de aminoácidos livres era seis vezes superior ao encontrado nas células sadias da extremidade apical das radículas. As quantidades de ATP e de proteínas foram quase iguais nos dois tipos de células.

O aumento da atividade metabólica das células gigantes estimula a mobilização de fotossintatos da parte aérea para as raízes e, em particular, para as células gigantes, sendo utilizados na alimentação do nematóide (MONTEIRO *et al.*, 1996).

Mobilização e acúmulo de substâncias atingem um máximo quando as fêmeas adultas começam a se reproduzir e há um decréscimo no término da reprodução (MEON *et al.*, 1978).

Polissacarídeos, ácidos nucléicos, aminoácidos e proteínas foram encontrados usualmente em grandes quantidades

em galhas de plantas de tomate infectadas com nematóides (OWENS & RUBISTEIN, 1966).

HOWELL & KRUSBERG (1966), mostraram que mudanças no conteúdo de aminoácidos são encontradas em raízes de alfafa e ervilha infectadas por *Ditylenchus dipsaci*.

Raízes de *Beta patillaris* infectadas por *Heterodera schachtii* mostraram um aumento significativo no conteúdo de aminoácidos, quando comparadas com as raízes de *B. vulgaris*, espécie resistente (DONEY *et al.*, 1970). O papel dos aminoácidos em resposta ao processo de infecção por nematóides em plantas não é conhecido. MYUGE (1956), sugeriu que aminoácidos poderiam induzir à formação de galhas. MYERS (1963) e WANG & BERGESON (1978) mencionaram que a alta concentração de aminoácidos seria, provavelmente, resultado do acúmulo de aminoácidos liberados de proteínas da planta hospedeira, provocado pela ação de enzimas proteolíticas do nematóide.

ZIMMERMAN & McDONOUGH (1978) mostraram que a infecção de nematóides causa nas raízes mudanças anatômicas que podem ocasionar alteração da absorção de água e no transporte de solutos e nutrientes. Diminuição na área foliar, deficiência mineral e murchamento temporário durante o período mais quente do dia e a baixa produtividade são consequências de raízes danificadas e muito característico de plantas atacadas por nematóides (Gonçalves *et al.*, 1995).

Uma vez que os nutrientes absorvidos pelas raízes são levados à parte aérea via xilema, seria esperado que qualquer

alteração no fluxo de água pudesse também acarretar deficiências minerais. Além disso, dependendo do nematóide e da população que esteja colonizando as raízes de uma planta, pode haver redução na absorção de nutrientes pela própria redução do sistema radicular, como também pela disfunção ocasionada no mesmo. Como consequência isto deveria levar à redução do crescimento das plantas (HUNTER, 1958; DASGUPTA & DEB, 1972; MACDONALD, 1979).

BONETTI et al. (1982) observaram diminuição na massa seca da parte aérea e da raiz de plantas de café infectadas por *M. exigua*. GONÇALVES et al. (1995) mostraram que o acúmulo de matéria seca diminuiu drasticamente em plantas de café infectadas com *M. incognita* raça 1, quando comparadas com plantas não infectadas.

Plantas de algodão infectadas por *M. incognita* consomem muito mais água do que plantas não infectadas, quando o suprimento é contínuo (O'BANNON & REYNOLDS, 1965).

TRUDGGILL & COTES (1983), observaram que o potencial hídrico de folhas é usualmente reduzido em plantas parasitadas por nematóides nas raízes.

Há indicações de que as células gigantes formadas nas raízes de culturas infectadas com vários tipos de nematóides interferem na absorção de nutrientes da planta hospedeira (SHEPHERD, 1965; JENKINS & MALEK, 1966; SEINHORST & DEN OUDEN, 1971)

O nutriente mineral necessário às plantas em maior quantidade é o nitrogênio (N). As plantas podem assimilar N

do solo na forma inorgânica, como nitrato e amônia, e em formas orgânicas, tal como uréia. Algumas plantas, incluindo leguminosas, podem fixar o N atmosférico em associação com bactérias simbióticas (MYLONA et al., 1995).

A deficiência de N afeta o metabolismo das plantas de modo generalizado, por ser constituinte de proteínas. A limitação do suprimento de N diminui a taxa de divisão celular, a expansão celular, a fotossíntese, etc (CHAPIN 1980; CLARKSON & HANSON, 1980; EVANS, 1983; SINCLAIR & HOIRE, 1989). Por outro lado, HUNTER (1958) observou que folhas cloróticas em plantas de tomate infectadas por *M. incognita* raça 1 mostraram conteúdo normal de N, fósforo, cálcio, magnésio e ferro. Cobre foi o único mineral que teve o conteúdo afetado.

DROPKIN & KING (1956) e BERGERSON (1966) não detectaram nenhuma alteração no transporte de N e potássio em plantas de tomate infectadas *M. incognita*.

O conteúdo de clorofila total e a taxa fotossintética em *Hyosciamus niger* diminuíram significativamente com o aumento no nível de infecção com *M. incognita* (HASEEB et al., 1990). GONÇALVES et al. (1995) também observaram uma redução no conteúdo de clorofila total em plantas *C. arabica* cv. Mundo Novo e *C. canephora* cv. Robusta infectadas com *M. incognita* raça 1. Em feijão quando o conteúdo de clorofila foi reduzido com o aumento do nível de infecção do nematóide, mas não foi diferente do controle (SIDDIQUI & MAHMOOD, 1994).

LOVEYS & BIRD (1973) mostraram que o alto nível de infecção por *M. javanica* em tomate causou um declínio na taxa de fotossíntese líquida dois dias após a inoculação. Esta baixa taxa foi mantida do início ao final do crescimento das plantas infectadas. Alto nível de infecção pelo nematóide *Globodera pallida* diminuiu a taxa fotossintética e a transpiração de batata (*Solanum tuberosum*) (SCHANS & ARNTZEEN, 1991). FATEMY *et al.* (1985), que conduziram estudos com *Globodera rostochiensis* também em batatas, sugerem que a redução da taxa fotossintética é devida ao fechamento estomático induzido pelo estresse hídrico.

Outros tipos de alterações foram encontradas em plantas infectadas por nematóides. A atividade da redutase do nitrato, a primeira enzima na assimilação de N em plantas, foi reduzida com o aumento do nível de infecção de nematóides *Heterodera cajani* em feijão guandu (SIDDIQUI & MAHMOOD, 1994).

O conteúdo de açúcares solúveis e amido em folhas de café *C. arabica* cv. Mundo Novo foi superior, mas não estatisticamente diferente, do tratamento controle (GONÇALVES *et al.*, 1995). Os autores argumentaram que devido a baixa demanda para o crescimento em plantas infectadas, haveria uma restrição no uso de carboidratos.

NYEZEPİR *et al.* (1988) encontraram que com o aumento do nível inicial do inóculo de *Criconemella xenoplax* houve

redução no conteúdo de açúcares solúveis na parte aérea e no sistema radicular em pessegueiro.

OLIEN *et al.* (1995) mostraram que em pessegueiro cv. *Nemaguard* infectado com *C. xenoplax* diminuiu o conteúdo de carboidratos solúveis totais em caules e raízes. O parasitismo de *C. xenoplax* também deslocou a partição de carboidratos solúveis totais das folhas para o caule e raiz. No entanto, no cv. BY520-9 a concentração de carboidratos solúveis totais não foi afetada por *C. xenoplax* (OLIEN *et al.*, 1995). O caule mostrou um aumento na porcentagem total no conteúdo de carboidratos solúveis totais na presença do parasita, porém a partição entre folhas e raízes não foi significativamente afetada.

Os compostos fenólicos, e em particular os seus produtos de oxidação, têm sido considerados potentes inativadores enzimáticos, principalmente das enzimas pécticas, através da formação de complexos e conseqüente precipitação dessas enzimas durante o processo de melanização dos tecidos danificados. Normalmente associado a este aumento da concentração de fenóis após a infecção, há um aumento da atividade de fenoloxidasas, as quais são certamente responsáveis pela oxidação desses fenóis livres e a sua transformação em produtos tóxicos (RODRIGUES Jr, 1980).

Os compostos fenólicos parecem estar envolvidos na resistência vegetal aos nematóides (GIEBEL, 1982). BRUSKE & DROPKIN (1973) sugeriram existir uma correlação positiva entre o grau de resistência a nematóides e o nível dos

compostos fenólicos presentes nos tecidos, porém isto não tem a completa concordância de outros autores (GIEBEL, 1982).

2. OBJETIVOS

Esta tese teve dois objetivos:

1) Estudar alterações de ordem fisiológica e bioquímica em cultivares de algodão tolerante (IAC-20) e suscetível (Acala), infectados com diferentes níveis de ovos de *M. incognita* raça 3.

2) Estudar alterações de ordem fisiológica e bioquímica em cultivares de algodão tolerante (IAC-20) e suscetível (Acala), crescidos sob diferentes níveis e fontes de N (nitrato e amônia) e infectados ou não com 7.500 ovos *M. incognita* raça 3.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

No presente trabalho foram utilizados dois cultivares de algodão, contrastantes quanto à resistência ao nematóide *M. incognita* raça 3.

O cultivar Acala, suscetível ao referido nematóide, foi obtido junto ao Centro Nacional de Pesquisa do Algodão (CNPQ)-EMBRAPA de Campina Grande-PB.

O cultivar IAC-20, com característica de resistência, é de origem paulista, tendo sido obtido no Instituto Agrônomo de Campinas, originado a partir de melhoramento genético do cultivar IAC-17 (GRIDI-PAPP et al., 1993).

Esterilização do solo

Foi colocada uma mistura de solo/areia na proporção de 1:1 em caixas de cimento, que foi esterilizada com brometo de metila. As caixas ficaram lacradas por três dias e, depois deixadas abertas por mais três dias para arejar.

Preparação e manutenção do inóculo

O inóculo inicial de *M. incognita* raça 3 foi fornecido pelo Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) em plantas de tomate. A identificação de *M. incognita* raça 3 foi feita de acordo com a metodologia descrita por TAYLOR & SASSER (1978).

Para a extração, as raízes das plantas de tomate foram lavadas em água corrente e trituradas em liquidificador, com hipoclorito de sódio (2% de cloro ativo) e água na proporção de 1:1 (v/v). Posteriormente, o extrato foi passado em peneiras de malha 60, 260 e 500 mesh, onde os ovos foram recolhidos e contados em lâmina de Peters ao microscópico (SASSER et al., 1984). Para as inoculações, foram feitas as necessárias diluições para atingir as concentrações de ovos desejadas em determinado volume de água.

A multiplicação do inóculo foi feita em plantas de *Colleus*, e mantidas na casa de vegetação do Departamento de Fisiologia Vegetal da UNICAMP.

EXPERIMENTO 1: Avaliação de parâmetros de crescimento e bioquímicos em plantas de algodão infectadas com diferentes níveis de inóculo.

As sementes de cada cultivar foram colocadas para germinar em copos plásticos de 500cm³ contendo uma mistura estéril de solo e areia, na proporção de 1:1. Três sementes foram colocadas em cada copo, sendo posteriormente selecionada apenas uma plântula.

Após a emergência da segunda folha, 18 vasos foram considerados como testemunhas, 18 vasos receberam suspensão de 3mL contendo 500 ovos de *M. incognita* raça 3 e outros 18 vasos receberam suspensão de 3mL contendo 5.000 ovos. A

inoculação foi feita distribuindo-se o inóculo em círculo ao redor da base do caule.

Todas as plantas foram irrigadas uma vez por semana com 80mL de solução nutritiva de Hoagland (HOAGLAND & ARNON, 1950), até a coleta das mesmas, realizadas aos 90 dias após a inoculação.

O controle de pragas e doenças foi feito com pulverização com o inseticida Tamaron (2mL/L de água) e com o fungicida Folicur (0,75mL/L de água).

Ao final do experimento, foram selecionados sete vasos de cada tratamento para a determinação de diversos parâmetros.

Foram realizadas medidas de fotossíntese utilizando-se aparelho IRGA (Infra Red Gas Analyser) da LICOR (modelo LI-6200) na terceira folha. As medidas foram tomadas entre 9 e 10 horas da manhã.

Após serem determinadas as alturas das plantas, as raízes foram removidas do solo, lavadas em água corrente e pesadas. Em seguida, as raízes foram trituradas em liquidificador para a avaliação do número de ovos por sistema radicular (TAYLOR & SASSER, 1978). Com estes dados também calculou-se o fator de reprodução (FR), resultante da razão entre a quantidade final e inicial de ovos. As raízes trituradas foram recuperadas, secas e a massa seca determinada.

Das 1^a, 2^a e 3^a folhas foram retirados 15 discos (diâmetro 6mm), sendo 5 de cada folha e colocados em

frascos contendo 10 mL de uma solução metanol, clorofórmio e água (M:C:W) na proporção de 12:5:3 (v/v/v) (BIELESK & TURNER, 1966). Na retirada dos discos evitaram-se as nervuras mais grossas. Estes frascos permaneceram por uma semana sob refrigeração (4°C) até a completa descoloração dos tecidos. Posteriormente, retirou-se 1 mL da solução para a dosagem de clorofilas (LICHTENTHALER et al., 1983). Ao restante, nos frascos, adicionou-se 3,4mL de água e 2,3mL de clorofórmio, agitando-os vigorosamente para boa homogeneização. Os frascos permaneceram por um dia a 4°C após a separação de fases e recuperou-se parte da fase superior, que foi guardada a -20°C para análises posteriores.

Nestes extratos foram realizados as determinações de fenóis e açúcares solúveis. A determinação de fenóis foi feita de acordo com SWAIN & HILLIS (1959), utilizando-se fenol (ácido fênico) como padrão. A análise de açúcares solúveis seguiu o método de DUBOIS et al. (1956), tendo sacarose como padrão.

A atividade da redutase do nitrato foi feita de acordo com RADIN (1974), em discos foliares de 6 mm de diâmetro, retirados da 2ª folha.

Os frutos de cada planta foram coletados e cortados ao meio tendo sido colocados para secar em estufa a 80°C por uma semana. Após este período foi feita a determinação da massa seca. O mesmo procedimento de secagem foi realizado

para determinar a massa seca da parte aérea. Caule e folhas foram secas separadamente.

Ainda neste mesmo experimento foram selecionadas outras sete plantas de cada cultivar nos diferentes níveis de inóculo, que foram submetidas a déficit hídrico. No início, as plantas foram irrigadas até a capacidade de campo e determinadas as massas dos vasos após total escoamento do excesso de água. Posteriormente, os vasos foram pesados diariamente e irrigados com 50% da massa perdida entre um dia e outro. Isto estendeu-se até 8 dias da interrupção da rega. Ao final foi determinado o potencial da água da 3ª folha usando-se uma bomba de pressão (Plant Moisture Stress-PMS Instruments Co. Modelo 102)

EXPERIMENTO 2: Avaliação de parâmetros de crescimento e bioquímicos em plantas de algodão infectadas por nematóide, recebendo diferentes fontes de N.

As sementes dos dois cultivares foram colocadas para germinar em copos plásticos de 700cm³ contendo uma mistura estéril de solo e areia, na proporção de 1:1. A exemplo do experimento 1, apenas uma planta foi deixada por vaso. Essas plantas foram mantidas sob condição de casa de vegetação e, por ocasião da emergência da segunda folha, 42 plantas de cada cultivar foram selecionadas para testemunhas e 42 plantas foram inoculadas com suspensão aquosa de 7.500 ovos de *M. incognita* raça 3.

Os 42 copos, controles e inoculados, foram divididos em grupos de 6, que passaram a ser irrigados, com 80mL de solução de Hoagland, que teve ou não a fonte de N modificada qualitativa e quantitativamente, conforme o quadro em seguida. As soluções 1x tinham 15mM de NO_3 ou NH_4 , e as 3x tinham 45mM. Como testemunhas, seis plantas receberam solução sem N e outras seis foram regadas apenas com água.

O fornecimento das soluções foi semanal por um período de 90 dias. Durante este período, o controle de pragas e doenças foi feito como no experimento 1.

Quadro 1: Composição das soluções nutritivas utilizadas. Dados expressos em mM.

	KH_2PO_4	KCl	KNO_3	NaNO_3	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	MgSO_4	CaCl_2	NH_4Cl
Água	0	0	0	0	0	0	0	0
-N	1	5	0	0	0	2	5	0
1 x NO_3	1	0	5	0	5	2	0	0
3 x NO_3	1	0	5	30	5	2	0	0
1 x NH_4	1	5	0	0	0	2	5	15
3 x NH_4	1	5	0	0	0	2	5	45

Como no experimento 1, ao final do experimento foram determinados os parâmetros altura, massa fresca de raiz, massa seca da parte aérea, massa seca de folhas, clorofila total, fenóis solúveis, açúcares solúveis, atividade da redutase do nitrato, total de ovos por sistema radicular, ovos/grama de raiz, fator de reprodução. Foi usado o mesmo

sistema de coleta e os mesmos métodos de análises do experimento 1.

Adicionalmente foi determinado o número de larvas no solo (TIHOHOD, 1989).

Além disso, amostras de solo foram retiradas das seis repetições de cada tratamento e reunidas como uma única amostra e nelas feita a determinação de N. As análises foram feitas pelo Instituto Campineiro de Análise de Solo e Adubo (ICASA).

Análises estatísticas

Em ambos experimentos o delineamento estatístico adotado foi o inteiramente casualizado. No primeiro experimento foi realizada a análise de variância e o teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade para a comparação das médias. No segundo experimento calculou-se apenas os desvios padrões.

Estes procedimentos foram feitos utilizando-se programa de análises estatísticas VARPC, desenvolvido pelo Prof. Ladaslav Sodek, do Departamento de Fisiologia Vegetal da UNICAMP.

4. RESULTADOS

EXPERIMENTO 1

O número de ovos por grama de raiz e o fator de reprodução em plantas de algodão infectadas por *M. incognita* raça 3 foram significativamente diferentes entre tratamentos e entre os cultivares Acala e IAC-20 (tabela 1). Apesar das diferenças significativas, observaram-se desvios padrão elevados. Acreditamos que tal fato ocorreu por termos utilizado baixos níveis de inóculo.

Com exceção da massa seca de parte aérea menos frutos do cultivar Acala e da massa seca da parte aérea com frutos do cultivar IAC-20 (tabela 2), houve sempre a tendência de que a massa seca de folhas, massa seca de parte aérea sem ou com frutos e altura fossem maiores no tratamento com 500 ovos. Em alguns casos não houve significância estatística, porém, acreditamos que isto seja consequência da variabilidade da infecção. Neste sentido, é interessante notar que as diferenças estatísticas entre os níveis de inóculo foram, em sua maioria, encontradas no cultivar IAC-20, ou seja, o tolerante, no qual a quantidade de ovos por grama de raiz foi muito reduzido. (tabela 1) No caso de massa seca de raiz, apesar de falta de diferença estatística, o aumento numérico foi em direção ao maior nível de inóculo. (tabela 2)

Tabela 1. Número de ovos e fator de reprodução de *M. incognita* raça 3 nos cultivares de algodão submetidos a diferentes níveis de infecção. Médias de 7 repetições. ND = não detectado.

NÚMERO DE OVOS	ACALA	IAC-20
	ovos/g massa fresca de raiz	
Testemunha	ND	ND
500 ovos	253 \pm 86 b A	0,6 \pm 0,4 b B
5.000 ovos	377 \pm 72 a A	1,7 \pm 1,3 a B
FATOR DE REPRODUÇÃO	número de ovos final/inicial	
Testemunha	ND	ND
500 ovos	3,3 \pm 0,5 b A	0,6 \pm 0,3 b B
5.000 ovos	3,8 \pm 0,04 a A	1,7 \pm 0,1 a B

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (Duncan 5%) entre tratamentos, em um mesmo cultivar. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas em um mesmo tratamento, entre os dois cultivares.

Comparativamente, sempre que houve diferença estatística significativa entre os cultivares, maiores valores foram observados no cultivar IAC-20. Também aqui, a exceção foi a massa seca do sistema radicular (tabela 2).

Tabela 2. Massa seca de folhas (MSF), massa seca da parte aérea (folhas + caule) exceto frutos (MSPA - frutos), massa seca da parte aérea (folhas + caule) inclusive frutos (MSPA + frutos), massa seca de raízes (MSR) e altura dos cultivares de algodão em diferentes níveis de infecção por *M. incognita* raça 3. Médias de 7 repetições.

	ACALA		IAC-20			
ALTURA	cm					
Testemunha	31,3	+ 1,6	b A	31,8	+ 2,0	a A
500 ovos	33,8	+ 3,3	a A	32,5	+ 2,4	a A
5.000 ovos	29,1	+ 1,9	b A	31,3	+ 2,7	a A
MSF	g/planta					
Testemunha	2,99	+ 0,73	a A	2,97	+ 0,23	a A
500 ovos	3,06	+ 0,28	a B	3,79	+ 0,70	b A
5.000 ovos	2,57	+ 0,34	a A	2,89	+ 0,54	a A
MSPA-FRUTOS	g/planta					
Testemunha	4,86	+ 0,98	a A	4,86	+ 0,34	b A
500 ovos	4,76	+ 0,42	a B	6,03	+ 0,98	a A
5.000 ovos	3,99	+ 0,56	a B	4,87	+ 0,88	b A
MSPA+FRUTOS	g/planta					
Testemunha	6,91	+ 0,77	a A	7,54	+ 0,77	a A
500 ovos	7,34	+ 0,47	a A	6,83	+ 0,42	b A
5.000 ovos	5,96	+ 1,07	b A	6,64	+ 0,51	b A
MSR	g/planta					
Testemunha	0,64	+ 0,31	a A	0,31	+ 0,06	a B
500 ovos	0,72	+ 0,26	a A	0,33	+ 0,05	a B
5.000 ovos	0,97	+ 0,18	a A	0,35	+ 0,17	a B

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (Duncan 5%) entre tratamentos, em um mesmo cultivar. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas em um mesmo tratamento, entre os dois cultivares.

A tabela 3 traz alguns dos resultados das análises bioquímicas em folhas de plantas infectadas por nematóides. De modo geral, poucas foram as diferenças estatísticas significativas. Também não observou-se alguma tendência tal qual nos dados de acúmulo de massa seca e altura.

Tabela 3. Conteúdos foliares de açúcares solúveis e fenóis dos cultivares de algodão em diferentes níveis de infecção por *M. incognita* raça 3. Médias de 7 repetições.

	ACALA	IAC-20
AÇÚCARES SOLÚVEIS	µg/disco	
Testemunha	38,4 + 5,5 a A	38,8 + 7,4 a A
500 ovos	41,7 + 8,9 a A	41,6 + 8,5 a A
5.000 ovos	36,7 + 5,6 a A	42,8 + 6,3 a A
FENÓIS	µg/disco	
Testemunha	45,9 + 10,6 a A	31,0 + 11,5 a B
500 ovos	35,7 + 6,2 a A	36,5 + 13,9 a A
5.000 ovos	40,3 + 6,7 a A	38,0 + 8,5 a A

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (Duncan 5%) entre tratamentos, em um mesmo cultivar. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas em um mesmo tratamento, entre os dois cultivares.

Observa-se pela Tabela 4 que houve tendência no aumento da assimilação de CO₂ com o aumento do nível do inóculo. De modo semelhante à taxa fotossintética, plantas infectadas apresentaram valores maiores de clorofila e redutase do nitrato (Tabela 4).

Quando as plantas foram submetidas a estresse hídrico, houve comportamento inverso entre os cultivares (Tabela 4). Com o aumento do nível do inóculo, o potencial da água diminuiu no cultivar IAC-20, ele aumentou no cultivar Acala com o aumento do nível do inóculo.

Tabela 4. Conteúdos foliares de clorofila total, atividade fotossintética e atividade da redutase do nitrato; e potencial da água (Ψ_{H_2O}) - após imposição de déficit hídrico - dos cultivares de algodão em diferentes níveis de infecção por *M. incognita* raça 3. Médias de 7 repetições.

	ACALA	IAC-20
CLOROFILA TOTAL	µg/disco	
Testemunha	1,85 + 0,38 b B	2,22 + 0,17 a A
500 ovos	2,11 + 0,25 b B	2,70 + 0,22 a A
5.000 ovos	2,45 + 0,46 a A	2,57 + 0,21 a A
FOTOSSÍNTESE	µmol CO ₂ /m ² .s	
Testemunha	9,3 + 1,8 a A	6,9 + 1,3 b A
500 ovos	10,7 + 3,9 a A	12,3 + 3,6 a A
5.000 ovos	11,1 + 2,5 a B	14,8 + 1,6 a A
REDUTASE DO NITRATO	µg/disco	
Testemunha	0,99 + 0,19 b A	0,79 + 0,13 b B
500 ovos	0,97 + 0,18 b A	0,63 + 0,15 b B
5.000 ovos	1,29 + 0,16 a A	1,11 + 0,17 a A
Ψ_{H_2O}	bar	
Testemunha	-16,5 + 3,8 a A	-17,2 + 2,5 a A
500 ovos	-13,8 + 5,4 a B	-19,3 + 1,9 a A
5.000 ovos	-12,8 + 2,8 a B	-22,2 + 1,8 b A

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (Duncan 5%) entre tratamentos, em um mesmo cultivar. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas em um mesmo tratamento, entre os dois cultivares.

EXPERIMENTO 2

No estudo da influência de diferentes fontes de N sobre o metabolismo de plantas de algodão infectadas por *M. incognita* raça 3 foi possível observar maior número de ovos por sistema radicular e ovos por grama de raiz no cultivar Acala independente da fonte de N utilizada. O cultivar IAC-20 mostrou-se tolerante à infecção, também independentemente da fonte de N utilizada (Figura 1).

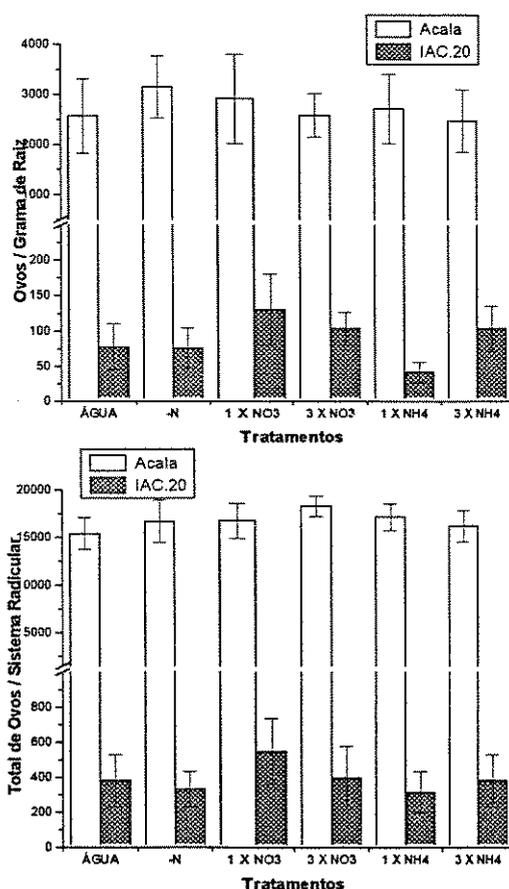


Figura 1. Ovos por grama de raiz e número de ovos por sistema radicular dos cultivares Acala e IAC-20 infectadas por *M. incognita* raça 3, e que receberam diferentes fontes de N. Médias de 6 repetições.

Também ficou evidente que em todos os tratamentos o número de larvas por 100 mL de solo e o fator de reprodução foram significativamente inferiores no cultivar IAC-20, quando comparados com o cultivar Acala (Figura 2).

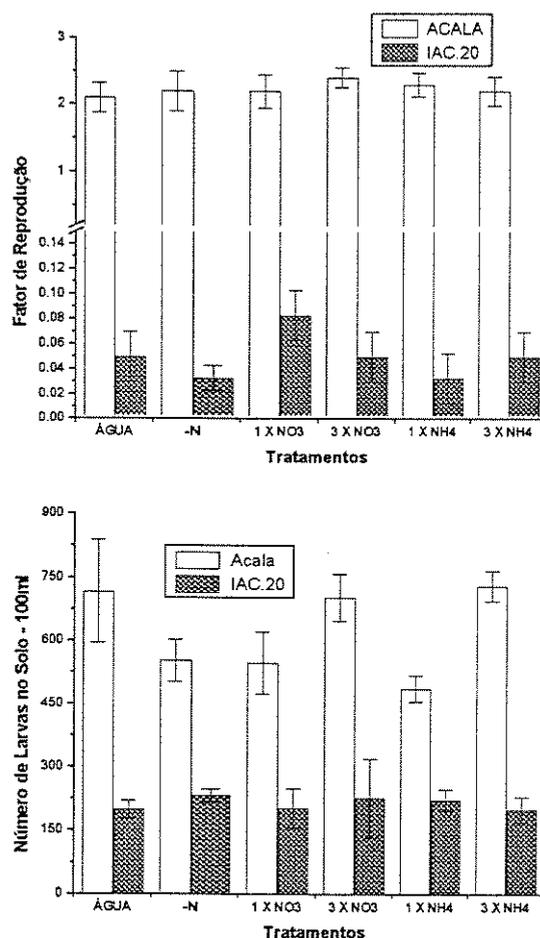


Figura 2. Número de larvas por 100 mL de solo e o fator de reprodução dos cultivares Acala e IAC-20 infectadas por *M. incognita* raça 3, e que receberam diferentes fontes de N. Médias de 6 repetições.

A massa fresca de raiz foi superior nas plantas do cultivar Acala infectadas com 7.500 ovos independente da fonte de N utilizada. Nas plantas controle houve aumento de

massa fresca de raiz com fornecimento de N. Plantas infectadas tenderam a ter maior sistema radicular. Por outro lado, no cultivar IAC-20, não houve diferenças tão nitidas entre as plantas não infectadas e as infectadas (Figura 3).

Aparentemente a variação no crescimento radicular foi novamente em função de adubação nitrogenada e não do inóculo, como observado no cultivar Acala, neste experimento e no experimento anterior (Figura 3).

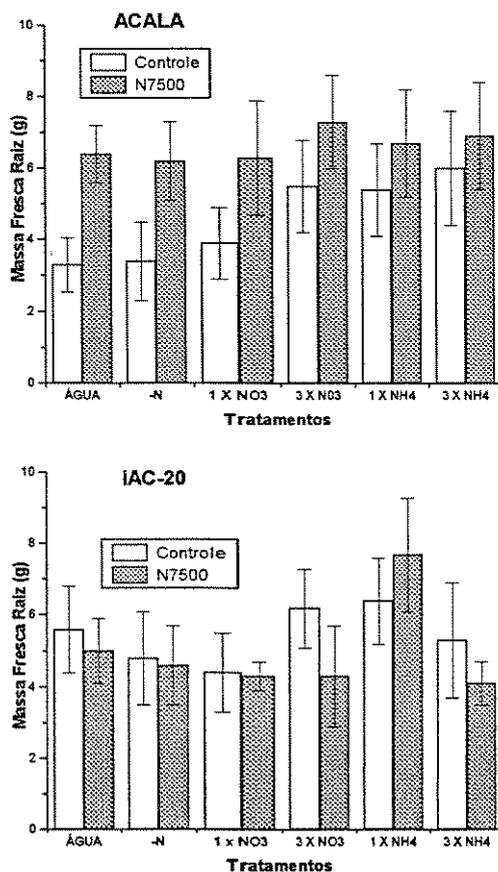


Figura 3. Massa fresca de raiz dos cultivares Acala e IAC-20 infectadas por *M. incognita* raça 3, e que receberam diferentes fontes de N. Médias de 6 repetições.

De modo geral o acúmulo de massa seca de folhas foi maior nas plantas que receberam N, sendo que as infectadas apresentaram maiores valores (Figura 4).

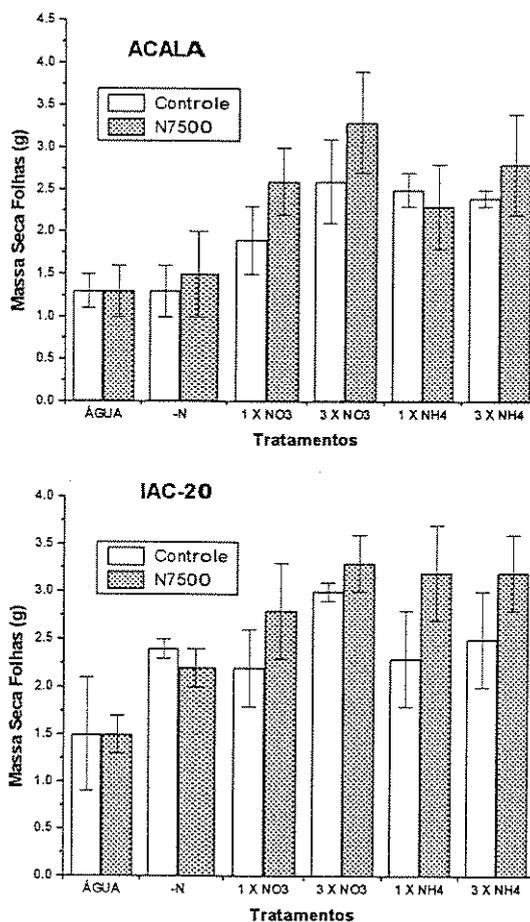


Figura 4. Massa seca de folhas dos cultivares Acala e IAC-20 infectadas por *M. incognita* raça 3, e que receberam diferentes fontes de N. Médias de 6 repetições.

Novamente para os dois cultivares, o acúmulo de massa seca de parte aérea tende a ser maior em plantas infectadas com nematóides (Figura 5). Porém, também é possível observar

que houve aumento em função da adubação nitrogenada e nos maiores níveis.

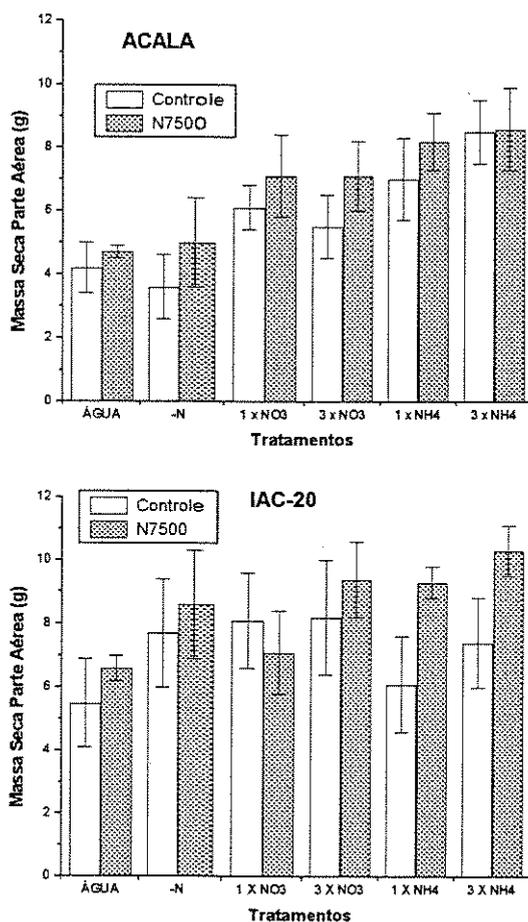


Figura 5. Massa seca da parte aérea dos cultivares de algodão em diferentes níveis de infecção por *M. incognita* raça 3, e que receberam diferentes fontes de N. Médias de 6 repetições.

O conteúdo de açúcares solúveis foi sempre menor nas plantas que receberam adubação nitrogenada (Figura 6). No entanto não foi clara uma tendência indicando se maiores ou menores valores estariam associados à infecção por nematóide.

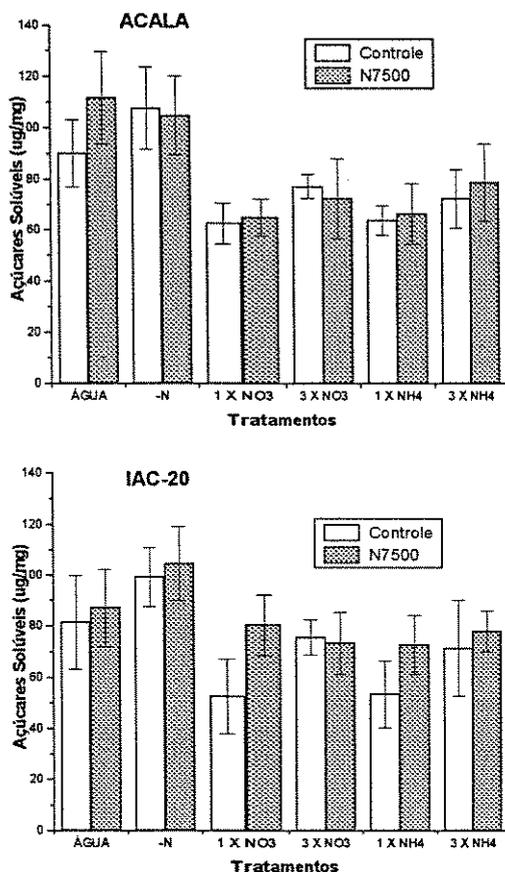


Figura 6: Conteúdo açúcares solúveis nos cultivares Acala e IAC-20 infectadas por *M. incognita* raça 3, e que receberam diferentes fontes de N. Médias de 6 repetições.

Semelhantemente a açúcares solúveis, o conteúdo de fenóis foi menor nas plantas que receberam N (Figura 7). Da mesma forma não foi possível observar alguma alteração ou tendência em função da infecção por nematóide.

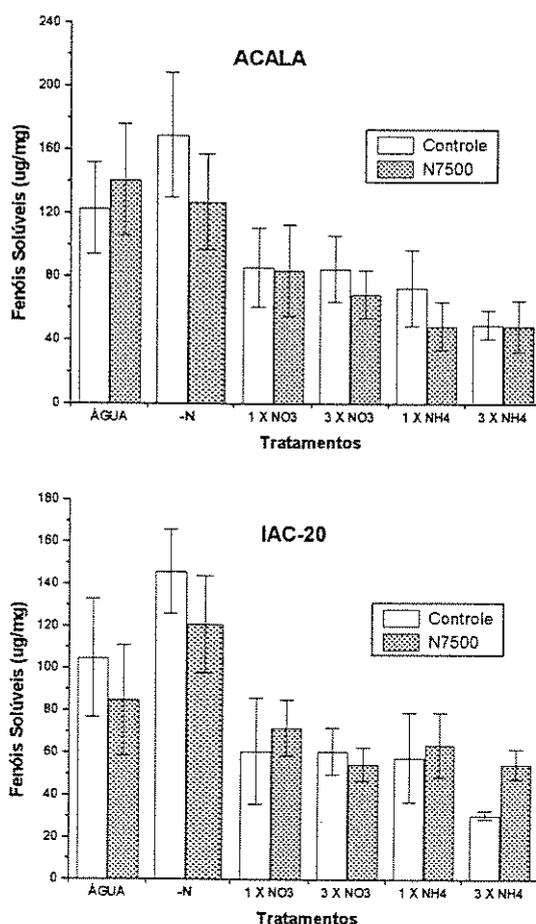


Figura 7. Concentração de fenóis solúveis nos cultivares Acala e IAC-20 infectadas por *M. incognita* raça 3, e que receberam diferentes fontes de N. Médias de 6 repetições.

O conteúdo de clorofila no cultivar Acala foi menor nas plantas infectadas, exceto nas plantas tratadas com NO_3 (Figura 8). No cultivar IAC-20 houve um aumento no teor de clorofila nas plantas infectadas, exceto nas plantas tratadas com $3x\text{NO}_3$. Tanto em Acala como em IAC-20 houve, de modo geral, aumento no teor de clorofila, conforme aumentou-se a dose de N.

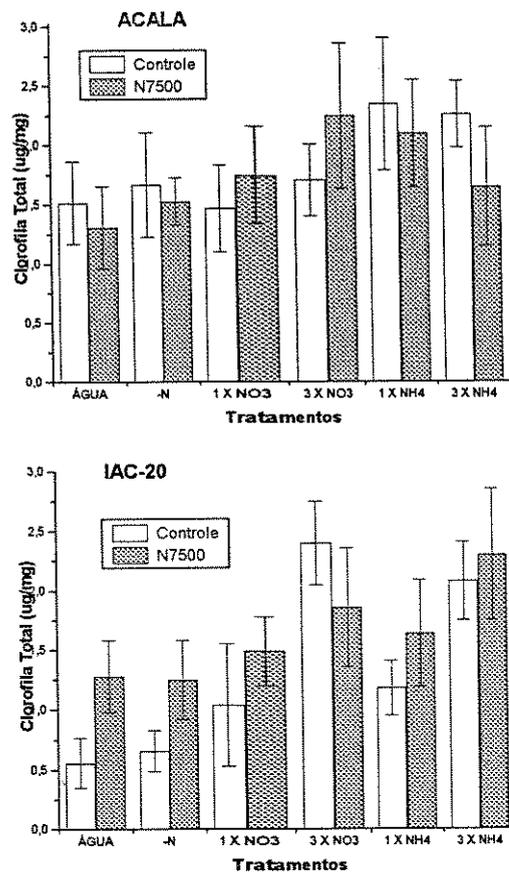


Figura 8. Conteúdo de clorofila total nos cultivares Acala e IAC-20 infectadas por *M. incognita* raça 3, e que receberam diferentes fontes de N. Médias de 6 repetições.

A atividade da redutase do nitrato no cultivar Acala aumentou com o acréscimo de qualquer das duas fontes de N (Figura 9). Porém, enquanto plantas infectadas que receberam nitrato apresentaram maior atividade, o oposto ocorreu com a adubação com amônia. No cultivar IAC-20, sempre as plantas infectadas tiveram maior atividade, sendo que também houve resposta em relação à adubação nitrogenada.

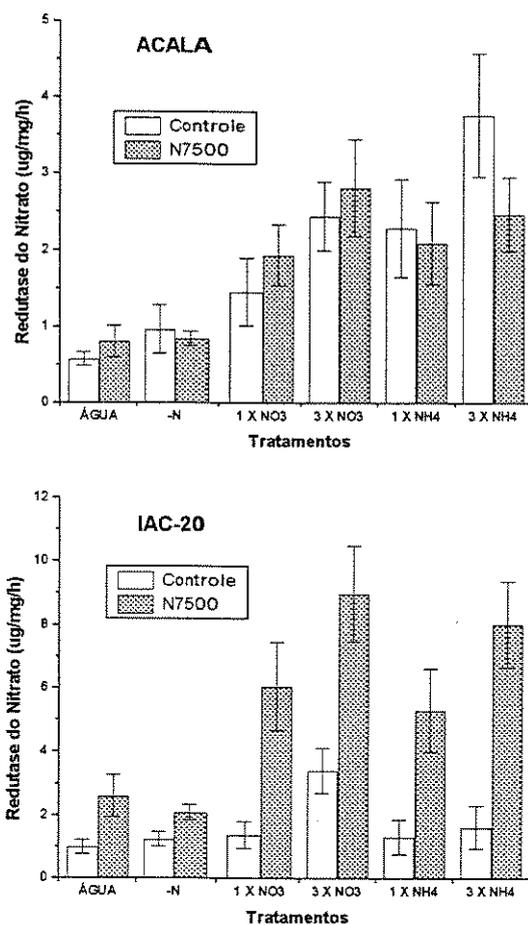


Figura 9. A atividade da redutase do nitrato nos cultivares Acala e IAC-20 infectadas por *M. incognita* raça 3, e que receberam diferentes fontes de N. Médias de 6 repetições.

A análise de N no solo, ao final do experimento mostrou maior acúmulo desse mineral no solo das plantas tratadas com nitrato e amônia. Não foram observadas diferenças entre solos tratados com diferentes níveis da fonte nitrogenada (Figura 10).

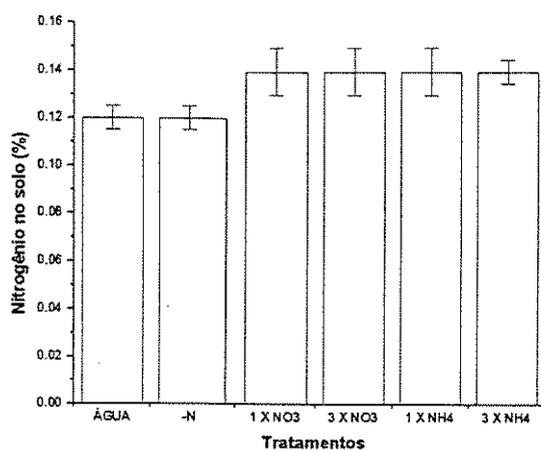


Figura 10. Concentração de N no solo, após o cultivo de plantas dos cultivares Acala e IAC-20 infectadas por *M. incognita* raça 3, e que receberam diferentes fontes de N. Médias de 6 repetições.

5. DISCUSSÃO

EXPERIMENTO 1

De acordo com os resultados obtidos em plantas de algodão infectadas por *M. incognita* raça 3, o cultivar Acala é bastante suscetível e o cultivar IAC-20 é moderadamente resistente. Esta conclusão tem como base o que foi estabelecido por TAYLOR & SASSER (1978). Segundo estes autores, fator de reprodução menor que 1 indica planta resistente, maior que 1, planta suscetível, valores próximos ou iguais a 1 devem ser entendidos como plantas moderadamente resistentes ou moderadamente suscetíveis.

Neste experimento observou-se uma variação muito grande quanto ao número de ovos por massa de sistema radicular (ver Tabela 1), tanto para Acala como para IAC-20. Esta variação talvez tenha ocorrido por termos optado por inocular as plantas com ovos, ao invés de juvenis do 2º estágio. O número de ovos não garante homogeneidade de infecção por poderem estar em diferentes estádios de desenvolvimento e, portanto, com eclosão ocorrendo em diferentes tempos. Isto possivelmente teve grande influência nos resultados obtidos. Outro fato é que em alguns trabalhos semelhantes ao conduzido aqui, os níveis de inóculo foram muito mais elevados do que os usados aqui. De qualquer modo, pudemos observar tendências quando os resultados não foram estatisticamente diferentes e

estas foram coerentes entre os experimento 1 e 2, e com o observado na literatura.

É curioso notar no experimento 1 que de acordo com os resultados com o nível de inóculo 500 ovos, foi o que induziu maior acúmulo de massa seca de parte aérea e altura das plantas. Acreditamos que isto tenha ocorrido como uma resposta da planta a um moderado estresse causado pelo nematóide. Porém, no maior nível observou-se aumento de massa seca de raiz. Provavelmente isto ocorreu porque nos pontos de infecção deve ter ocorrido emissão de raízes, como também observado por LORDELLO (1986). Ainda que não observadas diferenças estatísticas, houve aumento numérico da atividade fotossintética, o que de certa forma, esta de acordo com o aumento em matéria seca da parte aérea. Entretanto, este aumento também foi observado no mais alto nível de inóculo, o que bem poderia refletir que, de alguma forma, houve aumento de algum dreno metabólico nas plantas infectadas. Deste modo, se observarmos que com 5.000 ovos houve redução de massa seca da parte aérea (com ou sem frutos) e de folhas, e em altura, mas aumento no sistema radicular, podemos especular que o aumento em fotossíntese com este nível de inóculo foi devido à emissão de novas radículas. De modo semelhante à fotossíntese, houve aumento da atividade de redutase do nitrato e de clorofila, o que de certa forma é concordante, pois estão intimamente relacionados. A incorporação de N em aminoácido é dependente de esqueleto de C e o aumento de clorofila seria uma resposta a uma maior demanda de carboidratos. Entretanto o

nível de carboidratos solúveis aumentou em IAC-20 com 500 e 5.000 ovos, mas o mesmo não ocorreu com Acala, para o qual o aumento ocorreu somente com 500 ovos.

Aparentemente, seria uma contradição dizer que a infecção por nematóides levou ao aumento do sistema radicular. No entanto, há de se considerar, principalmente, o nível e o tipo de inóculo usado, ou seja, ovos e os níveis de 500 e 5.000 ovos. Não é possível dizer a porcentagem de ovos que se transformou em juvenis, mas muito provavelmente este número foi bastante inferior ao citado normalmente na literatura. Uma conta especulativa, mas de certa forma esclarecedora poderia ser considerada. Utilizemos como exemplo o dado 377 ovos/g massa seca de raiz de planta do cultivar Acala inoculadas com 5.000 ovos. Se considerarmos a umidade da raiz de 50%, a quantidade de ovos por grama de massa fresca dobraria, ou seja, seria 754. Se a massa total do sistema radicular foi de 0,97g, teríamos por sistema cerca de 730 ovos. Levando-se em conta que cada fêmea coloca em média 300-400 ovos (MONTEIRO et al., 1996), teríamos não mais do que 5 fêmeas por sistema radicular.

No entanto, SCHANS (1991) inoculou dois cultivares de batata com juvenis de *Globodera pallida* e observou redução da fotossíntese líquida em ambos, em apenas três dias após a inoculação. Porém, cada planta do cultivar resistente havia sido inoculada com aproximadamente 260.000 juvenis, e do suscetível com 60.000. As reduções foram de 28% na suscetível e 43% na resistente. Os autores concluem, com base em outras

medidas, que a redução em fotossíntese só ocorreu devido a outros fatores que não estomatais, ou melhor, não haveria nenhuma relação entre o fechamento estomático devido a um estresse hídrico, afetando, conseqüentemente, a incorporação de carbono pela fotossíntese.

Esta falta de relação também foi observada por outros autores (POSKUTA *et al.*, 1986; MELAKEBERHAN *et al.*, 1985). SCHANS (1991) comenta que os efeitos de *G. pallida* nas trocas gasosas de batata são muito semelhantes ao efeito de ácido abscísico na transpiração de plantas e conclui que, aparentemente, o que ocorre é função de uma resposta geral de estresse nas raízes da planta por uma condição adversa, no caso, o ataque de nematóides.

BIRD (1974) já sugeria que a inibição na síntese de fitormônios produzidos nas raízes, tal como citocininas e giberelinas, poderia levar ao fechamento estomático, reduzindo a fotossíntese. BRUSKE & BERGESON (1972) observaram redução no teor de citocininas na seiva do xilema de plantas de tomate infectadas por *M. incognita*, sugerindo que citocinina poderia ser o mensageiro para a resposta estomática devido à infecção por nematóides.

LOVEYS & BIRD (1973) observaram redução na fotossíntese em tomateiros infectados com 30.000 a 50.000 juvenis de *M. javanica* após 22 dias da inoculação. WALLACE (1974) também observou redução da taxa fotossintética em tomateiro infectado com altos níveis de inóculo.

MELAKEBERHAM *et al.* (1985) inocularam feijão com 0, 2000, 4000 e 8000 juvenis de *M. incognita* e após uma semana já observaram redução da atividade fotossintética, e após duas semanas, redução no conteúdo de clorofila.

HASEEB *et al.* (1990) observaram redução de fotossíntese e conteúdo de clorofila em folhas de *Hyoscyamus niger* infectadas com *M. incognita*. As maiores reduções foram obtidas a partir de 7.500 juvenis por planta e a coleta do material para análise foi feita 90 dias da inoculação. Neste nível e nesta época, o sistema radicular havia sido reduzido em aproximadamente 50%.

SIDDIQUI & MAHAMOOD (1994) inocularam plantas de *Cajanus cajan* com 250, 500, 1000, 2000 e 4000 juvenis de *Heterodera cajani*. Após 90 dias avaliaram, entre outras coisas, atividade da redutase do nitrato e o conteúdo de clorofila nas folhas, observando redução em função do aumento do nível do inóculo.

Por outro lado, KOENNING & BARKER (1995) inocularam soja crescendo em diferentes tipos de solo e sob diferentes formas de irrigação, com níveis de 80.000 a 350.000 juvenis de *Heterodera glycines*. Em todos os níveis a variação da fotossíntese foi muito pequena quando comparada ao controle. Segundo estes autores, só parte da redução na produção de grãos poderia ser atribuída à restrição da fotossíntese causada por *H. glycines*.

Assim, torna-se claro que o tipo e o nível de inóculo diferencia nosso trabalho dos outros da literatura, no sentido de que o que se conseguiu, aparentemente, foi provocar um certo estresse devido possivelmente ao baixo nível de fêmeas instaladas, dando oportunidade para o crescimento radicular mesmo com o uso de 5.000 ovos, nos dois cultivares. De outro modo, a quantidade de fêmeas presentes no sistema radicular da planta levou à alteração de alguns parâmetros e, inclusive, redução da produção de frutos (ver dados de massa seca de parte aérea com e sem frutos) no nível mais alto de inóculo, sem no entanto haver destruição do sistema radicular. A produção reduzida poderia ser, portanto, relacionada com a partição de fotoassimilados entre parte aérea e raízes.

Há porém de se considerar que o "dreno raiz" na verdade seria composto de crescimento radicular + nematóide.

Nematóides formadores de galhas obtém os nutrientes a partir do floema, via células gigantes (DORHOUT et al., 1993). Portanto, galhas constituem forte dreno de nutrientes provenientes da parte aérea (McCLURE, 1977).

ERICLE & VEECH (1979, citados em POSKUTA et al., 1986) mostraram altas atividades de enzimas respiratórias em raízes de soja infectadas com *H. glycines*. GOMMERS & DROPKIN (1977) mostraram, também, que raízes dessas plantas possuíam quatro vezes mais glicose do que plantas saudáveis.

Em um interessante estudo com laranjeira infectada com *Tylenchulus semipenetrans*, DUNCAN & EISSENSTAT (1993)

mostraram que a remoção de frutos favorecia a multiplicação do nematóide nas raízes. O inverso, ou seja, manutenção de frutos, prejudicava. Concluíram que o que poderia estar ocorrendo seria a competição por carboidratos produzidos pela fotossíntese. Assim, quando presentes, os frutos funcionariam como drenos mais fortes do que os nematóides nas raízes.

MELAKEBERHAN & FERRIS (1988) observaram que os poucos nematóides (*M. incognita*) que se estabeleceram nas raízes de um cultivar de uva moderadamente resistente desenvolveram-se tão bem quanto no cultivar suscetível. Isto levou MELAKEBERHAN et al. (1990) a especularem que cultivares resistentes e suscetíveis poderiam consumir sua energia diferentemente, ou para defender-se contra a infecção e reprodução do nematóide ou para reparar os danos causados pela infecção. Assim, estes autores conduziram ensaios onde notaram que a energia consumida por nematóides representou grande parte da energia consumida pela planta, tanto no cultivar de uva tolerante, como no suscetível. Apesar de terem observado maior dano no cultivar suscetível, os resultados obtidos levaram os autores a concluir que também existe um gasto considerável de energia no cultivar tolerante, e que isto seria para o processo de defesa e reparo.

Voltando aos nossos dados, o crescimento radicular no cultivar IAC-20 poderia ter ocorrido em função desse estresse causado pela infecção. Cabe lembrar que mesmo em plantas resistentes ocorre a penetração do nematóide na raiz, no

entanto, a larva não incitará a formação das células nutridoras e se os pré-parasitos tiverem reservas energéticas, tentarão migrar de volta para o solo, não completando o ciclo de formação de fêmeas.

KIRKPATRICK et al. (1991) observaram que após duas semanas da inoculação com *M. incognita*, em cultivares suscetível e resistente de algodão, as plantas apresentaram o mesmo número de juvenis nas raízes. No entanto, uma proporção muito maior desses juvenis tinha se desenvolvido em fêmeas adultas, que produziam ovos na cultivar suscetível.

Após determinado tempo de infecção, as plantas de Acala e IAC-20 foram submetidas ao estresse hídrico. Observou-se, curiosamente, que enquanto plantas do Acala tiveram potencial da água maior com o aumento do inóculo, o contrário ocorreu com IAC-20. Se considerarmos somente o cultivar suscetível, o aumento poderia ser explicado pelo maior sistema radicular, que foi de 52% nas plantas inoculadas com 5.000 ovos. Por outro lado, o pequeno aumento (12%) do sistema radicular do IAC-20 não parece ter sido suficiente para maior exploração e consequente captação de água do solo.

A murcha é normalmente indicada como um dos sintomas do ataque de nematóides em plantas, ocorrendo quando o suprimento de água no solo é pequeno durante as horas mais quentes do dia. Neste último caso a murcha é temporária.

A invasão de raízes por nematóides causa mudanças anatômicas e que poderiam alterar a absorção e transporte de água, afetando todo o estado hídrico da planta (WILCOX-LEE &

água, afetando todo o estado hídrico da planta (WILCOX-LEE & LORIA, 1987). Havendo interrupção do fluxo de água, o esperado é a queda do potencial da água nas plantas infectadas por nematóides (DORHOUT et al., 1991; WILCOX-LEE & LORIA, 1987)

Em feijão infectado com *M. hapla* e tomate infectado por *M. javanica* a condutividade hidráulica nas raízes foi menor do que nas plantas sadias (WILCOX-LEE & LORIA, 1986; MEON et al. 1978). KIRKPATRICK et al. (1991) também observaram que a condutividade também era menor em algodão suscetível infectado por *M. incognita*. No entanto, em plantas bem irrigadas não houve alteração do comportamento do potencial da água, transpiração, resistência estomática e temperatura foliar. Porém, sob déficit hídrico, todos estes fatores foram alterados. Transporte de água alterado em plantas de algodão infectadas por *M. incognita* também foi observado por KIRKPATRICK et al. (1995).

Porém, a maioria dos casos citados o número de juvenis utilizadas para a inoculação das plantas foi muito superior ao dos nossos ensaios, que utilizaram ovos. De qualquer forma, os dados obtidos para o cultivar Acala não deixam de ser contraditórios com o que se tem verificado por outros autores.

EXPERIMENTO 2

Relatos recentes indicam que tanto a utilização de N orgânico como de inorgânico, especialmente na forma de amônia, diminuía a população de nematóides no solo (KAPLAN & NOE, 1993; SUDIRMAN & WEBSTER, 1995).

No que diz respeito à amônia, SUDIRMAN & WEBSTER (1995) concluíram que certas concentrações podem alterar a atividade de malato desidrogenase, fazendo com que haja diminuição de energia disponível para a eclosão e o processo de invasão.

Alta concentração também pode modificar a pressão osmótica, a ponto de inibir a eclosão e o movimento do nematóide (DROPKIN et al., 1958). No entanto SUDIRMAN & WESBER (1995), combinando amônia e nitrato como fontes de N, observaram que nas menores concentrações de amônia, nitrato não era efetivo para inibir a eclosão de ovos e a penetração de *M. incognita* nas raízes de tomate em culturas axênicas.

WALKER (1971) utilizou várias fontes de N (orgânico e inorgânico) para estudar a população de *Pratylenchus penetrans* no solo. Observou que amônia e algumas formas orgânicas eram mais prejudiciais ao nematóide do que o nitrato.

Por outro lado, SPIEGEL et al. (1982) não verificaram nenhuma diferença na infecção de raízes de tomate por *M. javanica*, quando nitrato ou amônia foram utilizados em conjunto ou não como fonte de N.

Semelhante ao experimento 1, no experimento 2 o cultivar IAC-20 mostrou-se bastante tolerante, ocorrendo o oposto com o Acala. Não houve influência da fonte de N, ou quantidade aplicada, nos parâmetros relativos à reprodução do nematóide.

Semelhante ao experimento 1, no experimento 2 o cultivar IAC-20 mostrou-se bastante tolerante, ocorrendo o oposto com o Acala. Não houve influência da fonte de N, ou quantidade aplicada, nos parâmetros relativos à reprodução do nematóide.

O número de larvas por volume de solo foi muito menor nos vasos com plantas do IAC-20 (ver Figura 2). Por outro lado, se considerarmos que o tratamento com água ocasionaria uma forma de estresse nutricional, afetando assim uma série de passos no metabolismo da planta, podemos observar que no cultivar Acala houve aumento no número de larvas tanto neste tratamento como naqueles que receberam concentrações mais altas de N.

Em estufa, RODRIGUES-KÁBANA *et al.*, (1981, 1982, 1986) observaram que amônia reduzia a população de *Tylenchorhynchus claytoni* e *Helicotylenchus dihystra* no solo, quando aplicada na proporção de 60mg N/Kg de solo ou em níveis mais altos.

Em nosso caso, foram aplicados 80 mL de solução nutritiva semanalmente. Portanto, nos níveis 1x, adicionou-se algo em torno de 16 mg N por vaso e 48 mg N nos níveis 3x. Porém, nos outros dias da semana as plantas eram regadas apenas com água, havendo, portanto, certa lavagem do N do solo. Ainda assim pode-se observar aumento de N no solo no final do experimento. A diferença percentual entre os solos que receberam N, dos que não receberam N é de 0,02% ou seja 200mg/Kg de solo, logo, maior do que a quantidade aplicada por RODRIGUES-KÁBANA *et al.*, (1981, 1982).

Assim, não podemos concluir sobre um efeito do N na eclosão de ovos no cultivar Acala pois, para o mesmo tipo de solo, nematóide e quantidade de inóculo, houve diferenças entre dois cultivares. Especulamos que possa ter havido algum tipo de interação entre N e cultivar, ocorrendo, de alguma forma, a interferência da planta, na eclosão de larvas.

É interessante notar que JAEHM *et al.* (1983) observaram que cafeeiros irrigados com solução nutritiva sem N e inoculados com *M. incognita* apresentaram menor número de parasitas por ooteca e total de ovos por sistema radicular. Com o excesso de N observaram mais fêmeas maduras, média de ovos por ooteca maior e número total de ovos maior.

Nossos dados não mostraram isto. De certo modo, nas plantas de Acala e IAC-20 tratadas com água ou solução nutritiva sem N, o número total de ovos por sistema radicular e o número de ovos por massa seca de raiz foram muito semelhantes aos de outros tratamentos.

No experimento 2, pelo menos no que diz respeito ao número de larvas por volume de solo, não houve diferença entre amônia e nitrato.

O aumento de massa seca repetiu, de certa forma, o que foi observado no experimento 1. Naquele experimento, o aumento foi mais pronunciado no cultivar Acala e mais discreto no IAC-20. No experimento 2, o mesmo se repetiu para o cultivar suscetível, não sendo observado um aumento consistente no IAC-20, pelo menos no tratamento 1xNO₃, que seria equivalente ao experimento 1.

Por outro lado ocorreu aumento de massa seca de folhas e parte aérea nas plantas inoculadas dos dois cultivares, sendo que houve maior resposta nas maiores doses de N. Assim, houve interação positiva entre presença de nematóide e o fornecimento de N.

Também cabe aqui a discussão feita para o experimento 1, ou seja, a presença de *M. incognita* raça 3 no nível de 7.500 ovos provavelmente proporcionou um dreno, levando as plantas a responderem com aumento da fotossíntese. Não medimos fotossíntese neste ensaio, no entanto, podemos observar que os teores de clorofilas são bastante coerentes com aqueles de massa seca de folhas no cultivar Acala. O aumento de massa seca de folhas foi mais discreto quando amônia era a fonte de N. Houve uma certa redução no teor de clorofila com o uso de amônia, porém, houve aumento com o uso de nitrato. Já no IAC-20 a exceção é feita ao tratamento 3 x NO₃, no qual o controle teve mais clorofila que as plantas inoculadas. Porém, foi neste mesmo tratamento que os dados de massa seca mais se aproximaram.

Por outro lado, o conteúdo de açúcares solúveis não seguiu tão claramente o perfil de clorofila. O mesmo, de certa forma, ocorreu no experimento 1. Não necessariamente deveria haver tal relação, pois isto dependerá muito de como é a intensidade do dreno. Assim, pelo menos no que diz respeito aos nematóides como drenos, o ideal deveria ser a medida de açúcares no floema. Porém, nota-se que na maioria dos tratamentos e nos dois cultivares, o teor de açúcares

solúveis foi maior em plantas infectadas. Os tratamentos sem N e água apresentaram os maiores teores por, provavelmente, representaram estresses nutricionais, mesmo tendo os menores teores de clorofila. Aumento de amido e sacarose foi observado por ROBINSON (1997) em plantas de espinafre crescidas com deficiência de N.

O conteúdo de fenóis foi sempre maior nos tratamentos sem N e água. Assumindo-se que fenóis normalmente são compostos indicadores de vários tipos de estresse (HALE & ORCUTT, 1987) é possível dizer que apresentam certa relação com o estresse nutricional, mas não com aquele causado por nematóides.

A atividade da redutase do nitrato respondeu ao aumento do fornecimento de N, como esperado. No entanto, para o cultivar Acala, nitrato foi melhor do que amônia, podendo isto representar diferenças entre cultivares. Quanto à infecção por nematóides, com exceção ao tratamento com amônia no cultivar Acala, a infecção levou a uma maior atividade, sendo isto muito mais pronunciado no cultivar IAC-20. Como no experimento 1, este aumento pode significar uma maior taxa metabólica, devido a uma maior demanda pelas raízes infectadas.

6. CONCLUSÕES

Pelo presente trabalho podemos concluir que:

1. Em ambos cultivares o aumento da massa seca de raiz provavelmente foi uma resposta metabólica ao ataque do parasito. Para Acala, a formação e crescimento de novas raízes nos pontos de infecção; no IAC-20, talvez uma resposta de defesa/reparo.
2. As plantas do cultivar IAC-20 foram mais tolerantes ao estresse hídrico, provavelmente por terem desenvolvido maior sistema radicular, sem no entanto, este estar danificado, impedindo o fluxo de água.
3. Nos níveis utilizados, o nematóide levou a um aumento da fotossíntese, de clorofila, massa seca de parte aérea e redutase de nitrato.
4. Não houve diferenças nítidas sobre o efeito da forma de N empregada (amônia ou nitrato) na eclosão ou infecção do nematóide. Aparentemente, parece ter ocorrido alguma interação entre N e o cultivar de algodão.

7. LITERATURA CITADA

- BERGERSON, G.B. 1966. Mobilization of minerals to the infection site of root-knot nematodes. *Phytopathology*. 56:1287-1289.
- BIELESK, R.L., Turner, N.A. 1966. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin layer electrophoresis and chromatography. *Anal. Biochem.* 17:278-282.
- BIRD, A.F. 1961. The ultrastructure and histochemistry of a nematode induced giant-cell. *J. Biophys. Chem. Cytol.* 11:701-715.
- BIRD, A.F. 1974. Plant response to root-knot nematodes. *Annu Rev. Phytopathol.* 12:69-85.
- BIRD, A.F. 1979. Histopathology and physiology of syncytia. IN: *Root-nematodes: Systematics, Biology and control* (F. Lamberti and C.E. Taylor, eds), Academic, Press, London.447p.
- BONETTI, J.I.S., FERRAZ. S., OLIVEIRA, L.M. 1982. Influência do parasitismo de *Meloidogyne exigua* sobre a absorção de

micronutrientes (Zn, Cu, Mn e B) e sobre o vigor de mudas de cafeeiro. *Fitopatol. Bras.* 7:197-207.

BRUSKE, C.H., DROPKIN, V.H. 1973. Free phenols and root necroses in nematex tomato infected with the root-knot nematode. *Phytopathology* 63: 329-334.

BRUSKE, C.H., BERGESON, G.B. 1972. Investigation of growth hormones in xylem exudate and root tissue of tomato infected with root-knot nematode. *J. Exp. Bot.* 23,14-22.

CHAPIN, F.S. III 1980. The mineral nutrition of wild plants. *Am. Rev. Ecol. Syst.* 11:233-260.

CLARKSON, D.T., HANSON, J.B. 1980. The mineral nutrition of higher plants. *Annu Rev. Plant Physiol.* 31:239-298.

COSTA, W.M., GONÇALVES W., FAZUOLI, L.C. 1991. Produção do café Mundo Novo em porta-enxertos de *Coffea canephora* em área infestada com *M. incognita* raça 1. *Nematol. Bras.* 15: 43-50.

DASGUPTA, D.R., DEB, D.L. 1972. Studies on mineral absorption and translocation in tomato plants inoculated with root-knot nematodes *Meloidogyne javanica* and *M. arenaria* separately and together with special reference to p.32. *Phytopathol. Zeitschrift.* 75: 74-81

- DONEY, D.L., FIFE J.M, WHITNEY, E.E.D. 1970. The effect of the sugar beet nematode *Heterodera schachtii* on the free amino acids in resistant and susceptible Beta species. *Phytopathology*. 60:1727-1729.
- DORHOUT, R., GOMMERS, F.J, KOLLOFFEL, C. 1991. Water transport through tomato roots infected with *Meloidogyne incognita*. *Phytopathology*. 81:379-385.
- DORHOUT, R., GOMMERS, F.J., KOLLOFFEL, C. 1993. Phloem transport of carboxyfluorescein through tomato roots infected with *Meloidogyne incognita*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 43:1-10.
- DROPKIN, V.H, KING, R.C. 1956. Studies on plant parasitic nematodes homogenously labeled with radiophosphorus. *Exp. Parasitol.* 5:269-480.
- DROPKIN, V.H, MARTIN, G.C., JONSON, R.W. 1958. Effect of osmotic concentration on hatching of some plant parasitic nematodes. *Nematologica* 3:115-126.
- DUBOIS, M., GILLES, K.A., HAMILTON, J. K, REBERS, P.A, SMITH, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356.

- DUNCAN, L.W., EISSENSTAT, D.M. 1993. Responses of *Tylenchulus semipenetrans* to citrus fruit removal: implications for carbohydrate competition. *J. Nematol.* 25(1): 7-14.
- EVANS, J.R. 1983. Nitrogen and photosynthesis in flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiol.* 72:297-302.
- FATEMY, F., TRIENCHER, P.K.E., WINGFEILD, J.N., EVANS, K. 1985. Effects of *Globodera pallida*, water stress and exogenous abicisic acid on stomatal function and water use of cara and penthond dell potato plants. *Revue de Nematologie* 8:249-255.
- GIEBEL, J. 1982. Mechanism of resistance to plant nematodes, *Annu Rev. Phytopathology.* 20:257-279.
- GONÇALVES, W., MAZZAFERA, P., FERRAZ, L.C.C.B., SILVAROLLA, M.B., LIMA, M.M.A. 1995. Biochemical basis of coffee tree resistance to *Meloidogyne incognita*. *Plant. Res. Develop.* 2:54-60.
- GOMMERS, F.J, DROPKIN, V.H. 1977. Quantitative histochemistry of nematode-induced transfer cells. *Phytopathology* 67: 869-873.

GRIDI-PAPP, I.L. et al., 1993. Ensaios regionais de variedades paulistas de algodoeiro: VII. 1979/80/81. Boletim Científico, IAC. Nº 27 60p.

HASEEB, A., SRIVASTAVA, N.K., PANDEY, R. 1990. The influence of *Meloidogyne incognita* on growth, physiology, nutrient concentration and alkaloid yield of *Hyoscyamus Niger* *Nematol. Medit.* 18: 127-129.

HOAGLAND, D.R., ARNON, D.I. 1950. The water - culture method for growing plants without soil. *Calif. Agric. Exp. Sta. Circ.* 347.

HOWELL, R.K., KRUSBERG L.R. 1966. Changes in concentrations of nitrogen and free and bound amino acids in alfalfa and pea infected by *Ditylenchus dipsaci*. *Phytopathology* 56: 1170-1177.

HALE, M.G., ORCUTT, D.M. 1987. *The Physiology of Plants Under Stress*. John Wiley & Sons, New York, 205p.

HUNTER, A.H. 1958. Nutrient absorption and translocation of phosphorus as influenced by the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* e *M. acrita*. *Soil Sci.* 86:245-250.

JAHEN, A., MONTEIRO, A.R., LORDELLO, L.G.E., BARBIM, D., DEMÉTRIO, C.G.B. 1983. Efeito de nitrogênio e potássio em

- Meloidogyne incognita* (KOFROID & WHITE, 1919) CHITWOOD, 1949, como parasito de cafeeiro. **Soc. Bras. Nemat.** Publ. N^o 7.
- JENKINS, W.R., MALEK, R.B. 1966. Influence of nematodes on absorption and accumulation of nutrients in vetch. **Soil Sci.** 101:46-49.
- KAPLAN, M., SASSER, J.N. 1982. Effects of soil amendments on hatching of *M. incognita* populations eggs. **Phytopathology** 65:1178-1181.
- KAPLAN, M., NOE, J.P. 1993. Effects of chicken-excrement amendments on *Meloidogyne arenaria*. **J. Nematol.** 25:71-77.
- KIRKPATRICK, T.L., OOSTERHUIS, D.M., WULLSCHLEGER, S.D. 1991. Interaction of *Meloidogyne incognita* and water stress in two cotton cultivars. **J. Nematol.** 23(4):462-467
- KIRKPATRICK, T.L., van IESEL, M.W., OOSTERHUIS, D.M. 1995. Influence of *Meloidogyne incognita* on the water relations of Cotton grown in microplots. **J. Nematol.** 27:465-471.

- KOENNING, S.R., BARKER, K.R. 1995. Soybean photosynthesis and yield as influenced by *Heterodera glycines*, soil type and irrigation. *J. Nematol.* 27(1):51-62.
- LICHTENTHALER, H.K., WELLBURN, A.R. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Transactions* 11: 591-592.
- LORDELLO, L.G.E. 1986. Nematóides das plantas cultivadas. Editora Nobel, 8ª edição, São Paulo. 314p.
- LOVEYS, R.R., BIRD, A.F. 1973. The influence of nematodes on photosynthesis in tomato plants. *Physiol. Plant Pathol.* 3: 525-529.
- MACDONALD, D. 1979. Some interactions of plant-parasitic nematodes and higher plants. IN: Ecology of root pathogens (S.V. Krupta and Y.R. Domergues, eds), Amsterdam. pp.157-178.
- MCCLURE, M.A. 1977. *Meloidogyne incognita*: a metabolic sink. *J. Nematol.* 9, 88-90.
- MELAKEBERHAN, H., WEBSTER, J.M., BROOKE, R.C. 1985. Response of *Phaseolus vulgaris* to a single generation of *Meloidogyne incognita*. *Nematologica* 31: 190-202.

- MELAKEBERHAN, H., FERRIS, H. 1988. Growth and energy demand of *Meloidogyne incognita* on susceptible and resistant *Vitis vinifera* cultivars. *J. Nematol.* 20:545-554.
- MELAKEBERHAN, H., FERRIS, H., DIAS, J.M. 1990. Physiological response of resistant and susceptible *Vitis vinifera* cultivars to *Meloidogyne incognita*. *J. Nematol.* 22:224-230.
- MEON, S, WALLACE, H.R., FISHER, J. M. 1978. Water relations of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.cv early Dwarf red) infected with *Meloidogyne javanica* (Treb) Chitwood. *Physiol. Plant Pathol.* 13:275-281.
- MONTEIRO, A.R, FERRAZ, L.C.C.B., INOMOTO, M.M. 1996. Curso de Nematologia Agrícola. USP-ESALQ-Departamento de Zoologia, Piracicaba-SP. 150p.
- MYERS, R.F 1963. Materials discharged by plant-parasitic nematodes. *Phytopathology* 53:884. (Abstr).
- MYLONA, P., PAWIEWSKI, K., BISSELING. T. 1995. Symbiotic nitrogen fixation. *Plant Cell.* 7:869-885.

- MYUGE, S.G. 1956. A contribution to the study of the physiology of the nutrition of the gall nematode. Dokl. Akad. Nauk. SSSR 108:164-165.
- NYEZEPIR, A.P., WOOD, B.W. 1988. Peach leaf senescence delayed by *Criconemella xenoplax*. J. Nematol. 20:585-589.
- O'BANNON, J.H., REYNOLDS, H.W. 1965. Water consumption and growth of root-knot nematode infected and uninfected cotton plants. Soil Sci. 99:251-255.
- OLIEN, W.C., GRAHAM, C.J., HARDIN, M.E., BRIDGES Jr, W.C. 1995. Peach rootstock differences in ring nematode tolerance related to effects on tree dry weight, carbohydrate and prunansin contents. Phisiol. Plant. 94:117-123.
- OWENS R.G, RUBISTEIN, J.H.1966. Metabolic changes induced by root-knot nematodes in host tissues. Contrib. Boyce Thompson Inst. Plant Res. 23:199-213.
- POSKUTA, J.W., DROPKIN, V.H., NELSON, C.J. 1986. Photosynthesis, photorespiration, and respiration of soybean after infection with root nematodes. Photosynthetica 20:405-410.

- RADIN, J.W. 1974. Distribution and development of nitrate reductase activity in germinating cotton seedlings. *Plant Physiol.* 40:69-71.
- ROBINSON, J.M. 1997. Nitrogen limitation of spinach plants causes a simultaneous rise in foliar levels of orthophosphate, sucrose, and starch. *Int. J. Plant Sci.* 158: 432-441
- RODRIGUES Jr, C.J. 1980. Mecanismos de resistência das plantas aos agentes patogénicos. Junta de Investigações Científicas do Ultramar, Portugal, 67p.
- RODRIGUES-KÁBANA, R., KING, P.S., POPE, M.H. 1981. Combinations of anhydrous ammonia and ethylene dibromide for control of nematodes parasitic of soybeans. *Nematropica* 11:27-41
- RODRIGUES-KÁBANA, R., SHELBY, R.R.A., KING, P.S., POPE, M.H. 1982. Combination of anhydrous ammonia and 1,3-dichloropropenes for control of root-knot nematodes in soybean. *Nematropica* 12:61-69.
- RODRIGUES-KÁBANA, R. 1986. Organic and inorganic nitrogen amendments to soil as nematodes suppressants. *J. Nematol.* 18:129-135.

- SASSER, J.N. 1980 Root-knot nematodes a global menace to crop production. *Plant Disease*. 64,36-41.
- SASSER, J.N., CARTER, C.C. 1985. Overview of the international *Meloidogyne* project (1975-1984). IN: An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. vol. 1, Biology and Control. (J.N Sasser and C.C. Carter, eds), North Carolina State University Graphics, Raleigh, pp.19-24.
- SASSER, J.N., CARTER, C.C., HARTMAN, K.M. 1984. Standardization of host suitability studies and reporting of resistance to root-knot nematodes. North Carolina State University Graphics, Raleigh, 7p.
- SCHANS, J. 1991. Reduction of leaf photosynthesis and transpiration rates of potato plants by second-stage juveniles of *Globodera pallida*. *Plant Cell Environ.* 14: 707-712.
- SCHANS, J., ARNTZEEN, F.K. 1991. Photosynthesis, transpiration and plant growth characters of different potato cultivars at various densities of *Globodera pallida*. *Netherlands J. Plant Pathol.* 97: 297-310.
- SEINHORST, J.W., DEN OUDEN, H. 1971. The relation between density of *Heterodera rostochiensis* and growth and yield of two potato varieties. *Nematologica* 17:347-369.

- SHEPHERD, A.M. 1965. *Heterodera* biology, pp.89-102 IN: Southey Plant nematology, H.M.S.O, Minnesota Agric Teach. Bull n° 7
- SHEPHERD, R.L., HUCK, M.G. 1989. Progression of root-knot nematode symptoms and infection on resistant and suscetible cotton. *J. Nematol.* 21:235-241.
- SIDDIQUI, Z.A., MAHAMOOD, I. 1994. Effect of *Heterodera cajani* on growth, chlorophyll content and activity of some enzymes in Feijão guandu. *Nematropica* 24:103-111.
- SINCLAIR, T.R., HOIRE, T. 1989. Leaf nitrogen, photosynthesis, and crop radiation use efficiency: a review. *Crop Sci.* 29:90-98.
- SPIEGUEL, Y., COHN, E., KAFKAFI, U., SULAMI, M. 1982. Influence of potassium and nitrogen fertilization on parasitism by the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *J. Nematol.* 14(4)530-535.
- SUDIRMAN, WEBSTER J.M. 1995. Effect of ammonium ions egg hatching and second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita* in axenic tomato root culture. *J. Nematol.* 27:346-352.

- SWAIN, T., HILLIS, W.E., 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* 10:63-68.
- TAYLOR, A.L., SASSER, J.N. 1978. Biology identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). North Carolina State University Graphics, Raleigh, 111p
- TIHOHOD, D. 1989. *Nematologia Agrícola*. Vol.1. FUNEP, Jaboticabal - SP, 80p.
- TRUDGILL, D.L., COTEL.M. 1983. Tolerance of potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis* and *G. pallida*) in relation to the root system. *Ann Appl. Biol.*
- WALKER, J.T. 1971. Populations of *Pratylenchus penetrans* relative to decomposing nitrogenous soil amendments. *J. Nematol.* 3:43-49.
- WALLACE, H.R. 1974. The influence of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*, on photosynthesis and on nutrient demand by roots of tomato plants. *Nematologica* 20:27-33.

WANG, E.L., BERGESON, G.B. 1978. Amino acids and carbohydrates secreted by *Meloidogyne incognita*. *J. Nematol.* 10:367-368.

WILCOX-LEE, D.A., LORIA, R. 1986. Water relations, growth, and yield in two snap bean cultivars infected with root-knot nematode. *Meloidogyne hapla* (Chitwood). *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 111:34-38.

WILCOX-LEE, D.A., LORIA, R. 1987. Effects of nematode parasitism on plant-water relations. Pp.260-266 IN: *Vistas on nematology* (J. A. Veech and D. W. Dickison, eds.). Society of Nematologists Inc., Hyatsville, pp.260-266.

ZIMMERMAN, M.H., McDONOUGH, J. 1978. Disfunction in the flow of food. IN: *Plant Disease, An Advanced Treatise* vol. 3, *How Plants Suffer from Disease* (J.G. Horsfall and E.B. Cowling, eds.), Academic Press, New York, pp.117-140.