

## AJUSTE DE METODOLOGIA NA AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE CENOURA AO NEMATOIDE-DAS-GALHAS (*Meloidogyne javanica*)

ADJUSTMENT OF METHODOLOGY IN THE EVALUATION OF CARROT GENOTYPE RESISTANCE TO ROOT-KNOT NEMATODE (*Meloidogyne javanica*)

Leandro Alves Santos<sup>1</sup>, Luciana Moraes de Freitas<sup>2</sup>, Jadir Borges Pinheiro<sup>3</sup>, Agnaldo Donizete Ferreira de Carvalho<sup>4</sup>, Giovani Olegário da Silva<sup>5</sup>

1 Aluno do Curso de Agronomia

2 Professora do Curso de Agronomia (Orientador)

3 Pesquisador da Embrapa Hortaliças (Coorientador)

4 Pesquisador da Embrapa Hortaliças (Coorientador)

5 Pesquisador da Embrapa Hortaliças (Coorientador)

### Resumo

Um dos principais fitopatógenos responsáveis por prejuízos econômicos em diversas culturas agrícolas, incluindo a cenoura, são os nematoides-das-galhas pertencentes ao gênero *Meloidogyne*. Com o objetivo de identificar o nível populacional de inóculo de *Meloidogyne javanica* que proporciona a máxima expressão dos sintomas do ataque de nematoides-das-galhas em cenoura, foi realizado um experimento avaliando os genótipos de cenoura cv. Brasília e cv. Roxa. O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Embrapa Hortaliças, localizada em Brasília-DF, utilizando vasos de 2 L, com seis repetições, em esquema fatorial 6x2, no delineamento inteiramente casualizado. As dosagens de inóculo foram de zero, 02, 04, 08, 16 e 32 mil ovos e eventuais juvenis de 2º estágio (O+J2). O tomate suscetível *Rutgers* foi utilizado como testemunha para verificar a eficiência do inóculo. A inoculação foi realizada 50 dias após a semeadura, e a avaliação dos parâmetros ocorreu 100 dias após a inoculação. Foram avaliados os seguintes parâmetros: massa da raiz principal (g), massa da raiz secundária (g), massa da casca da raiz (g), número de ovos e juvenis por grama de casca de raiz, somado ao número presente nas raízes secundárias, e o fator de reprodução dos nematoides nas cascas das raízes e nas raízes secundárias. Os resultados deste estudo destacam a importância do uso de cultivares resistentes como uma estratégia central para o controle de *Meloidogyne javanica* na cultura da cenoura. A cultivar 'Brasília' demonstrou ser mais resistente ao ataque do nematoide, conforme esperado, uma vez que apresentou baixa reprodução de nematoides. Em contraste, a cultivar 'Roxa' foi identificada como altamente suscetível, com elevados números de ovos e juvenis, especialmente nas situações de maior infestação, quando houve aumento nos níveis de inóculo. Os dados indicaram que o nível de 2000 ovos por planta é o mais adequado para avaliar a resistência dos genótipos. Esse nível é eficaz na diferenciação do desempenho entre cultivares resistentes e suscetíveis, além de fornecer informações sobre a resposta de cada cultivar ao ataque dos nematoides.

**Palavras-Chave:** *Daucus carota*.; Fator de Reprodução; *Meloidogyne javanica*, Melhoramento de plantas

### Abstract

One of the main phytopathogens responsible for economic losses in various agricultural crops, including carrots, are root-knot nematodes belonging to the genus *Meloidogyne*. The aim of this study was to identify the optimal inoculum population level of *Meloidogyne javanica* that leads to the maximum expression of symptoms caused by root-knot nematodes in carrots. An experiment was conducted to evaluate the genotypes of carrot cultivars cv. Brasília and cv. Roxa. The experiment took place in a greenhouse at Embrapa Hortaliças, Brasília-DF, using 2 L pots with six replications, following a 6x2 factorial scheme in a completely randomized design. The inoculum levels tested were zero, 02, 04, 08, 16, and 32 thousand eggs and second-stage juveniles (O+J2). The susceptible tomato cultivar *Rutgers* was used as a control to assess the inoculum efficiency. Inoculation occurred 50 days after sowing, and evaluations were conducted 100 days after inoculation. The following parameters were evaluated: fresh weight of the main root (g), fresh weight of the secondary roots (g), fresh weight of the root skin (g), number of eggs and juveniles per gram of root skin,

including those in the secondary roots, and the nematode reproduction factor on the root skins and secondary roots.

The results of this study highlight the importance of using resistant cultivars as a central strategy for controlling *Meloidogyne javanica* in carrot crops. The cultivar 'Brasília' was found to be more resistant to nematode attack, as expected, showing low nematode reproduction. In contrast, the carrot cultivar 'Roxa' was identified as highly susceptible, exhibiting high numbers of eggs and juveniles, especially at higher inoculum levels. The data showed that a level of 2000 eggs per plant is the most suitable for evaluating the resistance of genotypes. This level is effective in differentiating the performance between resistant and susceptible cultivars, as well as providing insights into how each cultivar responds to nematode attack.

**Keywords:** *Daucus carota*; Reproduction Factor; *Meloidogyne javanica*; Plant Breeding

**Contato:** leandro.santos@souicesp.com.br

## Introdução

Os nematoides são microrganismos pertencentes ao filo Nematoda, responsáveis por afetar de forma significativa a produção agrícola mundial (Agrios, 2005). Dentre os nematoides fitoparasitas, *Meloidogyne* spp., comumente chamado de nematoide-das-galhas, é um dos gêneros mais estudados e combatidos, devido ao seu impacto direto no rendimento e na qualidade de diversas culturas agrícolas, incluindo a cenoura (*Daucus carota*) (Sikora & Fernández, 2005).

Os sintomas são a formação de galhas, bifurcação, excesso de produção de raízes e ramificações laterais, além de alterações no comprimento e diâmetro da raiz principal, tornando as raízes inúteis para o consumo (Pinheiro, 2017).

O cultivo de cenoura é uma atividade agrícola de alta relevância econômica, especialmente em regiões de clima temperado e tropical. Contudo, a presença de nematoides fitoparasitas, em especial o gênero *Meloidogyne*, tem sido um obstáculo na produção de raízes de alta qualidade (Abad et al., 2008). As perdas econômicas decorrentes dos ataques desses microrganismos são expressivas, elevando os custos de produção e reduzindo a rentabilidade dos agricultores (Chitwood, 2003).

Diversas abordagens têm sido aplicadas na busca de soluções para este problema. O uso de nematicidas químicos, embora eficaz, apresenta inconvenientes relacionados ao impacto ambiental e à saúde humana (Decraemer & Hunt, 2006). Neste contexto, a pesquisa por genótipos resistentes de cenoura ao nematoide-das-galhas tem ganhado destaque como uma alternativa viável e sustentável (Perry et al., 2018).

Um dos desafios encontrados nessa linha de pesquisa é a adequação metodológica para a avaliação da resistência. A existência de diferentes níveis de inóculo, variabilidade genética entre as populações de nematoides e divergências nas condições experimentais, são fatores que podem

influenciar os resultados e, conseqüentemente, a seleção de genótipos resistentes (Jones et al., 2013).

Assim, este trabalho teve como objetivo ajustar a metodologia de avaliação de genótipos de cenoura do programa de Melhoramento de Plantas para resistência ao nematoide-das-galhas (*Meloidogyne javanica*). Foram testados os níveis de inóculo zero, 2, 04, 08, 16 e 32 mil ovos e eventuais juvenis de 2º estágio (O+J2).

## Materiais e Métodos

### Caracterização da área experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e no Laboratório de Nematologia na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), na Unidade Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (CNP/Embrapa Hortaliças). A unidade se localiza na Rodovia BR-060, Km 09 (Brasília/Anápolis), Fazenda Tamanduá, Gama – Distrito Federal, altitude de 996 metros e coordenadas geográficas de 15°56"00" de latitude Sul e 48°08"00" de longitude a Oeste.

### Identificação, produção e manutenção do inóculo de *Meloidogyne javanica*

Foram retiradas fêmeas do nematoide-das-galhas (*Meloidogyne* sp.) das raízes de seis plantas de tomateiro onde o isolado de origem de cultivo de cenoura estava sendo mantido. Em seguida, fez-se a identificação por eletroforese e isoenzima esterase pela técnica adaptada de Carneiro & Almeida (2000) a qual para a análise do polimorfismo de isoenzimas por eletroforese, a proteína analisada foi a esterase (EST), que permite a identificação de um maior número de espécies de *Meloidogyne* (Esbenshade & Triantaphyllou, 1990; Carneiro & Almeida, 2001). Para isso, fêmeas adultas do nematoide-de-galhas foram excisadas de raízes com auxílio de estilete de ponta fina e estereomicroscópio. As fêmeas foram transferidas para tubos contendo de 3 a 5 ml do tampão de extração (Carneiro & Almeida, 2001), maceradas com pistilo e aplicadas em cavidade

formadas no gel de poliacrilamida. Cultura pura de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood foi o padrão de referência comparativa entre os fenótipos encontrados no campo. O extrato enzimático de cada amostra foi aplicado em uma cavidade do gel. A identificação dos fenótipos foi realizada através do cálculo da mobilidade relativa (Rm) de cada banda polimórfica comparada ao padrão.

Para a produção de inóculo, o nematoide foi multiplicado em plantas de tomate cv. Rutgers em vasos com capacidade de 5 litros contendo solo autoclavado e inoculadas com suspensão de 5.000 ovos e eventuais juvenis de segundo estágio (J2) por planta. Aos 60 dias após a inoculação, ovos e J2 foram extraídos dos sistemas radiculares das plantas de tomate segundo a técnica de Hussey & Barker (1973) modificada por Bonetti & Ferraz (1981), que consiste em processar o sistema radicular infectado em liquidificador com hipoclorito de sódio a 0,5% e, em sequência, o material processado passou por um conjunto de peneiras sobrepostas de 42 mesh (0,354 mm), 100 mesh (0,149 mm) e 500 mesh (0,025mm de abertura de malha), para a obtenção da suspensão de inóculo que é constituída pelos ovos e eventuais juvenis retidos na peneira de 500 mesh. A suspensão de ovos e J2 foi recolhida em um bêquer para contagem e calibração do inóculo em câmara de Peter ao microscópio óptico

### **Inoculação**

Cinquenta dias após semeadura foi realizada a inoculação das raízes das plântulas, com suspensão dos níveis populacionais avaliados (níveis populacionais de zero, 02, 04, 08, 16 e 32 mil ovos e eventuais juvenis de 2º estágio (O+J2), em 5 ml de água distribuídas em volta do colo da planta.

### **Tratamentos Avaliados**

Os experimentos foram conduzidos em duas épocas distintas em casa de vegetação e o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial (6x2), sendo seis níveis de inóculo, dois genótipos e seis repetições. As duas cultivares de cenoura utilizadas, uma suscetível (Cv. Roxa) e outra resistente (Cv. Brasília) ambas foram inoculadas com *Meloidogyne javanica*. O primeiro experimento ocorreu de janeiro a maio e o segundo experimento ocorreu no período de maio a agosto de 2023. O solo na proporção de areia e solo de 3:1 foi preparado e autoclavado. A adubação do substrato foi realizada com 300 g da formulação NPK 04-30-16 e 300 g de calcário dolomítico por 300 kg de substrato. Em seguida foi colocado em vasos plásticos com capacidade para 2 Litro e semeadas as sementes de cenoura. O desbaste foi realizado cerca de 44 dias após a semeadura. Durante o

desbaste deixou-se apenas uma planta por vaso (parcela experimental) seguida foi realizada a inoculação dos nematoides.

Foram usados na investigação sobre a resistência de genótipos de cenoura ao nematoide-das-galhas, duas cultivares de cenoura, a Cv. Brasília (resistente) e Cv. Roxa (suscetível). Foi inoculados diferentes níveis populacionais de *Meloidogyne Javanica* (0, 2, 4, 8, 16 e 32 mil ovos + eventuais juvenis de 2º estágio (J2). Cada tratamento teve 6 repetições. Como padrão de suscetibilidade foi utilizado o tomate Cv. Rutgers para verificar a viabilidade do inóculo. A irrigação de forma manual com bico irrigador, mantendo o solo úmido, mas sem encharcar.

### **Avaliação**

Cem dias após a inoculação (DAI), as raízes de todos os tratamentos foram coletadas e realizadas a lavagem dos sistemas radiculares preservando as galhas e massas de ovos. Após a lavagem, as raízes foram mantidas em solução de Floxina B 25 mg / 4 L de água para coloração das raízes e melhor visualização das massas de ovos que foram avaliadas quanto ao índice de massa de ovos (IMO) e índice de galhas (IG) conforme a metodologia proposta por (Taylor e Sasser, 1978). Posteriormente, ovos e juvenis de segundo estágio (J2) do *Meloidogyne javanica* foram extraídos das raízes de acordo com Bonetti & Ferraz (1981). A amostra foi recolhida com pisseta para um recipiente de 50 ml, devidamente identificadas com nome da cultivar e número da repetição e levadas ao microscópio óptico, passando uma quantidade de 1 ml para uma Câmara de Peters para contagem do número de ovos e eventuais J2 presentes nos tratamentos e cálculo do fator de reprodução (FR) de acordo com Oostenbrink (1966).

### **Análises estatísticas**

A análise estatística foi realizada utilizando a análise de variância conjunta (ANOVA), com a aplicação do teste F para avaliar a significância dos efeitos de tratamentos e interações a um nível de significância de  $p \leq 0,05$ . Para a comparação de médias, foi utilizado o teste t, também a  $p \leq 0,05$ .

### **Resultados e discussões**

Os resultados obtidos na análise de variância conjunta para os diferentes parâmetros avaliados nos experimentos são apresentados na Tabela 1.

De acordo com os resultados obtidos, observou se pela análise de variância conjunta, diferenças significativas nas variáveis avaliadas, destacando a influência dos fatores genotípicos e ambientais no comportamento das cultivares de cenoura frente ao ataque de *Meloidogyne javanica*. A interação genótipo versus experimento demonstrou comportamentos distintos entre as cultivares 'Roxa'

e 'Brasília', destacando a importância das condições ambientais e dos níveis de infestação no desempenho de cada genótipo (Tabela 1).

A variável massa da raiz principal (g) apresentou efeito significativo do fator experimento (2030,01\*), indicando uma diferença clara entre os dois experimentos. Contudo, os efeitos das interações genótipo *versus* experimento e genótipo *versus* inóculo *versus* experimento não foram significativos, sugerindo que, embora existam diferenças marcantes entre os experimentos, estas não são dependentes de interações complexas. O coeficiente de variação (CV) elevado, de 33,99, demonstra uma considerável variabilidade relativa nos dados, o que pode ter limitado a capacidade de detectar diferenças significativas em outras interações. A média geral para o experimento 2 (24,06 g) foi significativamente maior que a do experimento 1 (13,99 g) (Tabela 1).

Em relação a variável massa da raiz secundária (g) verificou-se significância para o efeito do inóculo (19,66\*) e para a interação genótipo *versus* inóculo (11,32\*), o que evidencia um impacto relevante desses fatores isolados ou em combinação na variável estudada. Por outro lado, a interação genótipo *versus* experimento e outros fatores complexos não apresentaram efeitos significativos. O CV de 24,27 aponta para uma variabilidade menor que a da massa da raiz principal (g), porém ainda relevante. As médias gerais dos experimentos não diferiram significativamente, com valores de 2,20 g e 1,91 g para os experimentos 1 e 2, respectivamente (Tabela 1).

Para a massa da casca (g), observou-se que o efeito do experimento foi altamente significativo (285,69\*), destacando diferenças relevantes entre os experimentos. Apesar disso, outros fatores e interações não mostraram significância estatística, mesmo com diferenças marcantes entre médias, como os valores de 5,44 g no experimento 1 e 9,22 g no experimento 2. O CV de 28,86 reflete a variabilidade relativa dos dados, que pode ter impactado negativamente a detecção de significância para outras interações (Tabela 1).

O número de ovos e juvenis de 2º estágio de *Meloidogyne javanica* por grama de casca apresentou significância para diversos fatores, como o inóculo (3,30E+07\*), o genótipo (6,10E+08\*), e o experimento (8,20E+07\*), bem como para interações específicas, como genótipo *versus* experimento (3,30E+07\*). Apesar disso, os altos valores de CV, como 100,79, indicam uma dispersão muito elevada nos dados, o que pode ter dificultado a identificação de significância para outras interações. A média geral do experimento 2 (162,34) foi consideravelmente superior à do experimento 1 (92,87), indicando diferenças entre

os experimentos (Tabela 1).

Os resultados obtidos neste estudo revelaram interações significativas entre os fatores analisados, destacando a influência de variáveis como o inóculo, o genótipo das cultivares e as condições experimentais no comportamento das características avaliadas. Essas observações corroboram estudos prévios que também apontaram interações semelhantes em contextos agrícolas e fitopatológicos, especialmente na relação planta-patógeno (Chitwood, 2002; Ferreira et al., 2014). A análise das respostas observadas enfatiza a complexidade dessas interações, sugerindo que os mecanismos subjacentes envolvem tanto a dinâmica populacional dos nematoides quanto respostas fisiológicas e bioquímicas das plantas.

**Tabela 1.** Quadrados médios e significâncias dos efeitos de tratamentos e interações pela análise de variância conjunta. Embrapa Hortaliças, 2024

	Massa raiz		Massa casca (g)	IG	IMO
	principal (g)	secundária (g)			
Inóculo (In)	53,75	19,66*	9,81	0,43	0,61
Experimento (Exp)	2030,01*	1,67	285,69*	0,87	0,56
Genótipo (Gen)	74,83	89,61*	32,13	175,02*	160,55*
Expx Inóc	445,80	5,27	38,47	1,02	1,16
Gen x Inóc	64,84	11,32*	2,16	0,75	1,50
Gen x Exp	33,32	1,23	10,30	1,70	0,01
Gen x Inóc x Exp	291,35	5,24	38,13	1,29	1,36
Resíduo	138,62	2,18	16,98	0,52	0,53
CV	33,99	24,27	28,86	11,91	13,14
Média geral	19,03	2,05	7,32	2,77	2,66
Média geral Exp1	13,99 b	2,20 a	5,44 b	2,67 a	2,74 a
Média geral Exp2	24,06 a	1,91 a	9,22 a	2,88 a	2,58 a
Média geral Brasília	19,99 a	1,00 b	7,96 a	1,29 b	1,24 b
Média geral Roxa	18,06 a	3,11 a	6,69 a	4,25 a	4,08 a
					-----
	N ovos+J2 casca	N ovos+J2 raiz sec	N ovos casca e raiz sec	FR casca + raiz secundária	
Inóculo (In)	3,30E+07*	8,15E+6*	8,30E+07*	783,84*	-----
Experimento (Exp)	8,20E+07	5,30E+7*	5,50E+08*	362,96*	-----
Genótipo (Gen)	6,10E+08*	9,82E+7*	1,04E+09*	935,27*	-----
Expx Inóc	8,60E+07	1,42E+7*	1,50E+08*	227,46*	-----
Gen x Inóc	3,40E+07	6,27E+7	6,50E+07	621,93*	-----
Gen x Exp	3,30E+07	3,09E+8*	3,30E+08	250,23*	-----
Gen x Inóc x Exp	8,20E+07	5,43E+7	5,70E+07	146,01	-----
Resíduo	6,1E+08	3,36E+7	3,6E+07	51,29	-----
CV	100,79	47,91	47,79	40,81	-----
Média	127,60	5170,78	5285,13	3,90	-----
Média geral Exp1	92,87 a	2596,25 b	2662,62 b	1,77 b	
Média geral Exp2	162,34 a	7745,31 a	7907,65 a	6,03 a	
Média geral Brasília	6,95 b	1665,86 b	1672,81 b	0,48 b	
Média geral Roxa	248,26 a	8675,69 a	8897,45 a	7,32 a	

Massa raiz principal (g): massa da raiz principal, Massa raiz secundária (g): massa da raiz secundária, Massa casca (g): massa da casca da raiz, IG: índice de galhas, IMO: índice de massa de ovos, N ovos+J2casca: número de ovos e juvenis por grama de casca das raízes, N ovos+J2 raiz secundária: número de ovos e juvenis por grama de raízes secundárias, N ovos casca e raiz sec: número de ovos e juvenis por grama de casca de raízes somado ao número nas raízes secundárias, FR casca + raiz secundária: fator de reprodução dos nematoides nas cascas das raízes e nas raízes secundárias. \*Significativo a  $p \leq 0,05$  pelo teste F. CV: coeficiente de variação. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferiram a  $p \leq 0,05$  pelo teste t.

Os dados apresentados na Tabela 2 evidenciam uma interação significativa entre os

fatores genótipo (cultivares de cenoura) e experimento (duas épocas) para as características avaliadas: número de ovos e juvenis de 2º estágio de *Meloidogyne javanica* por grama de raízes secundárias (N ovos+j2 raiz sec) e o fator de reprodução nas cascas das raízes e raízes secundárias (FR casca + raiz secundária). Essa interação indica que as cultivares não apresentaram o mesmo desempenho em ambos os experimentos, e que o experimento com maior ou menor média também variou dependendo da cultivar.

Para a variável número de ovos e juvenis de 2º estágio de *Meloidogyne javanica* por grama de raízes secundárias (N ovos+j2 raiz sec), a cultivar Brasília apresentou valores médios de 1059,57 no experimento 1 e 2272,15 no experimento 2. Embora o experimento 2 tenha proporcionado valores superiores, as diferenças entre os experimentos foram significativas apenas dentro da mesma cultivar. Por outro lado, a cultivar Roxa mostrou médias significativamente maiores, com 4132,92 no experimento 1 e 13218,47 no experimento 2. Esse padrão confirma que a cultivar Roxa teve um desempenho consistentemente superior em termos de reprodução de ovos e juvenis, independentemente do experimento, porém com uma variação mais acentuada entre períodos (Tabela 2).

No caso do fator de reprodução (FR), a cultivar Brasília apresentou valores significativamente diferentes entre os experimentos: 0,12 no experimento 1 e 0,84 no experimento 2. Já a cultivar Roxa destacou-se com valores muito superiores, registrando 3,42 no experimento 1 e 11,22 no experimento 2. Mais uma vez, o experimento 2 favoreceu a reprodução de nematoides para ambas as cultivares, com maior impacto na cultivar Roxa (Tabela 2).

Esses resultados destacam a necessidade de realizar comparações específicas entre cultivares dentro de cada experimento para determinar qual a melhor cultivar ou qual experimento proporcionou maior reprodução de ovos e FR. Isso reforça que as condições experimentais influenciaram diferentemente cada genótipo, e a análise separada é essencial para definir a recomendação mais adequada.

**Tabela 2.** Desmembrando a interação com o fator Experimento (Exp) e Genótipos (Gen). Embrapa Hortaliças, 2024

Variação	N ovos+j2 raiz sec	
	Exp. 1	Exp. 2
cv. Brasília	1059,57 aA	2272,15 bA
cv. Roxa	4132,92 aB	13218,47 aA
	FR casca + raiz secundária	
	Exp. 1	Exp. 2
cv. Brasília	0,12 aA	0,84 bA
cv. Roxa	3,42 aB	11,22 aA

Médias seguidas de letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferiram pelo teste t a  $p \leq 0,05$ .

A Tabela 3 mostra as correlações entre diferentes características analisadas, ajudando a entender como uma variável influencia ou é influenciada por outra. Valores próximos de 1 indicam uma relação forte e positiva (quando uma aumenta, a outra também aumenta), enquanto valores negativos indicam relação inversa (quando uma aumenta, a outra reduz).

A massa da raiz secundária (g) apresentou correlação moderada com a massa da raiz principal (0,43\*) e uma correlação mais forte com a massa da casca (0,65\*), sugerindo que o desenvolvimento das raízes secundárias está mais relacionado ao crescimento da casca do que à raiz principal (Tabela 3).

O índice de massa de ovos (IMO) apresentou correlação extremamente forte com a massa da raiz secundária (g) (0,99\*), indicando que raízes secundárias maiores favorecem a produção de ovos, devido provavelmente a uma maior disponibilidade de sítios para infecção. Essa relação também foi forte com o índice de galhas (IG) (0,89\*) e a massa da casca (0,74\*), reforçando que o aumento das galhas e da massa da casca está relacionado ao maior acúmulo de ovos (Tabela 3).

O número de ovos por grama de raiz secundária mostrou uma correlação moderada com a massa da raiz secundária (0,49\*), indicando que raízes secundárias maiores tendem a concentrar mais ovos, mesmo com a padronização por grama. Já o número total de ovos (considerando casca e raiz secundária) teve uma correlação um pouco maior com a massa da casca (0,71\*), mostrando que essa variável também tem influência no acúmulo de ovos.

O fator de reprodução (FR) apresentou as maiores correlações com a massa da raiz principal (0,83\*), massa da raiz secundária (0,83\*) e IMO (0,84\*), demonstrando que o aumento no tamanho das raízes e na produção de ovos está fortemente associado à reprodução dos nematoides. Por outro lado, o número de ovos por grama de casca teve uma correlação muito baixa com o FR (-0,04), indicando pouca influência dessa característica na reprodução.

**Tabela 3.** Correlação simples entre as diferentes variáveis analisadas. Embrapa Hortaliças, 2024

	Massa raiz principal	Massa raiz secundária	Massa casca	IG	IMO	N ovos casca	N ovos raiz secundária	N ovos casca e raiz
Massa raiz secundária	0,43*							
Massa casca	0,66*	0,65*						
IG	0,22	0,89*	0,75*					
IMO	0,49*	0,99*	0,74*	0,91*				
N ovos casca	-0,07	0,30	0,67*	0,63*	0,37*			
N ovos raiz secundária	0,83*	0,49*	0,70*	0,30	0,54*	0,25		
N ovos casca e raiz secundária	0,82*	0,50*	0,71*	0,31	0,55*	0,27	1,00*	
FR	0,83*	0,83*	0,66*	0,59*	0,84*	-0,04	0,68*	0,67*

Massa raiz principal (g): massa da raiz principal, Massa raiz secundária (g): massa da raiz secundária, Massa casca (g): massa da casca da raiz, IG: índice de galhas, IMO: índice de massa de ovos, N ovos+J2casca: número de ovos e juvenis por grama de casca das raízes, N ovos+J2 raiz secundária: número de ovos e juvenis por grama de raízes secundárias, N ovos casca e raiz secundária: número de ovos e juvenis por grama de casca de raízes somado ao número nas raízes secundárias, FR casca + raiz secundária: fator de reprodução dos nematoides nas cascas das raízes e nas raízes secundárias; \*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

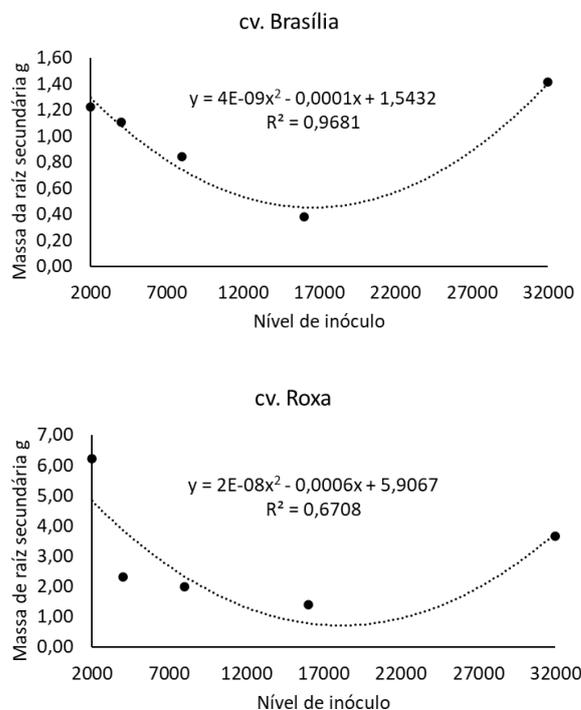
A Figura 1 apresenta as curvas de regressão da massa de raízes secundárias (g) em função dos níveis crescentes de inóculo, analisados separadamente para cada cultivar de cenoura. Como o nível de inóculo é um fator quantitativo, a análise por regressão é mais adequada, o que permite interpretar como a variável dependente (massa de raízes secundárias) responde aos níveis populacionais de *Meloidogyne javanica* inoculados.

De acordo com os resultados observados verificou-se que a massa das raízes secundárias (g) reduz com o aumento inicial dos níveis populacionais de inóculo, possivelmente devido aos danos causados pelos nematoides nas raízes, que podem ter comprometido o desenvolvimento, resultando em menor tamanho e peso. Esse padrão foi observado em ambas as cultivares, confirmando que o aumento da infestação impacta negativamente o crescimento radicular (Figura 1).

Entretanto, algo peculiar foi observado nos níveis populacionais de *Meloidogyne javanica* mais elevados. A massa das raízes secundárias apresentou aumento em relação às doses intermediárias. Esse comportamento foi similar nas duas cultivares, porém não há uma explicação clara para essa resposta. Entretanto, pode-se inferir que, em níveis populacionais mais elevados, as plantas possam ter ativado algum mecanismo de tolerância ou compensação no desenvolvimento das raízes, porém isso não foi confirmado.

O comportamento não linear observado nas curvas evidenciou que a relação entre os níveis populacionais de inóculo e a massa de raízes secundárias (g) é complexa e não pode ser explicada apenas por comparações das médias. A análise de regressão permite identificar essas nuances, reforçando a necessidade de avaliações detalhadas para compreender os mecanismos subjacentes a essas respostas inesperadas nos níveis populacionais mais elevados de *Meloidogyne javanica*.

A massa de raízes secundárias apresentou redução inicial com o aumento do inóculo, comportamento que pode ser atribuído aos danos diretos causados pelos nematoides, como descrito por Carneiro et al (2001). Esses danos comprometem a funcionalidade das raízes e reduzem o desenvolvimento inicial da planta. No entanto, a posterior recuperação da massa em níveis populacionais elevados de inóculo observado em alguns genótipos sugere a ativação de mecanismos de defesa ou de tolerância, como a redistribuição de recursos metabólicos ou a ativação de respostas específicas. Evidências adicionais de estudos como os de Abrão e Mazzafera (2001) apontam que, em doses mais elevadas de inóculo, algumas cultivares podem ativar mecanismos que permitem uma recuperação parcial, reforçando a hipótese de tolerância fisiológica em condições de alta infestação.



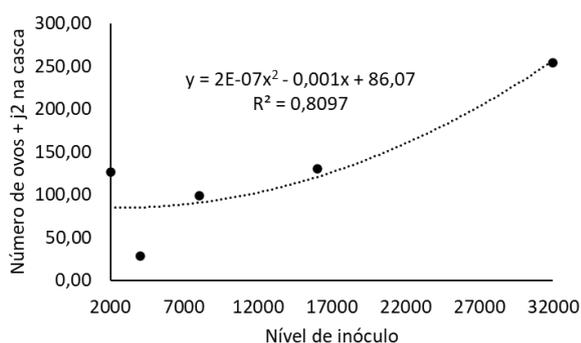
**Figura 1.** Curvas de regressão para massa de raízes secundárias (g) em função dos níveis de inóculo para cada cultivar de cenoura. Embrapa Hortaliças, 2024

A Figura 2 apresenta a curva de regressão para o número de ovos e juvenis (j2) encontrados na casca das raízes de cenoura (g), considerando os níveis populacionais crescentes de inóculo, na média de ambas as cultivares e experimentos. Como o número de ovos na casca não apresentou interação significativa com cultivares ou experimentos, isso indica que o efeito foi semelhante para as duas cultivares e em ambos os períodos experimentais.

Embora não se observou interação, houve efeito significativo do fator cultivar, como mostrado na Tabela 1, com médias diferenciadas entre elas (representadas por letras diferentes). Além disso, o fator níveis populacionais inoculados também influenciou significativamente sobre essa característica, indicando que os diferentes níveis de inóculo impactaram diretamente a variável número de ovos na casca (Figura 2).

A análise de regressão revela uma relação positiva entre os níveis populacionais inoculados de *M. javanica* e o número de ovos na casca; quanto maior o nível populacional aplicado, maior foi o número de ovos encontrados (Figura 2). Isso demonstra que a infestação aumenta de forma consistente com a quantidade de inóculo utilizada.

Esse padrão confirma a importância do inóculo como variável quantitativa, já que ele influencia diretamente a reprodução dos nematoides na casca das raízes de cenoura, independentemente do genótipo ou experimento (Figura 2). Portanto, o aumento contínuo observado na curva de regressão reforça a necessidade de controle eficaz em condições de altos níveis de inóculo, especialmente devido à proporção crescente de ovos depositados na casca.



**Figura 2.** Curva de regressão para o número de ovos + j2 na casca das raízes de cenoura em função dos níveis de inóculo na média das cultivares de cenoura e dos experimentos.

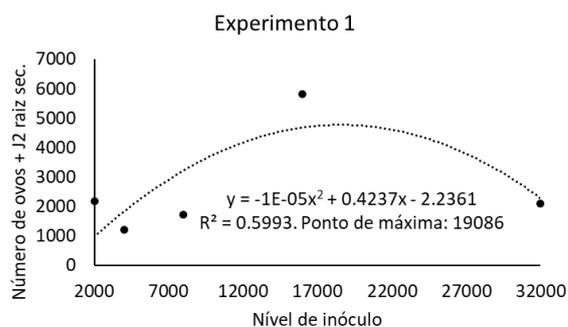
A Figura 3 apresenta as curvas de regressão para o número de ovos e juvenis (j2) nas raízes secundárias e na casca combinada com raízes secundárias, avaliadas em função dos níveis

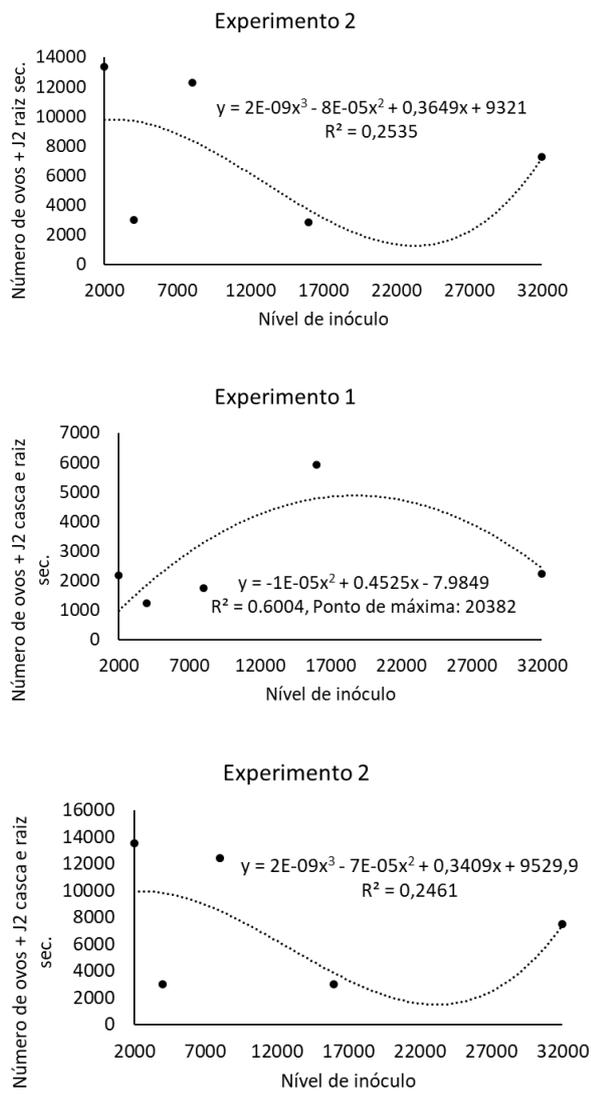
crescentes de inóculo, separadamente para cada experimento. Os resultados demonstram uma interação significativa entre os fatores inóculo e experimento, indicando que o efeito dos diferentes níveis populacionais inoculados de *M. javanica* não foi consistente entre os dois períodos experimentais.

Ao observar as curvas de regressão, percebe-se uma diferença marcante entre os experimentos. No primeiro ano, os dados seguiram um padrão mais esperado e lógico, com um comportamento de curva convexa, em que os valores aumentam até atingir um pico e, em seguida, diminuem. Esse padrão permitiu calcular o ponto de máxima, que representa o nível populacional ideal de inóculo de *M. javanica* capaz de proporcionar o maior valor para a característica em análise. Esse ponto está indicado nas figuras, correspondendo ao valor mais preciso e ideal de nível de inóculo no eixo x. (Figura 3).

Por outro lado, no segundo experimento, as curvas apresentaram um comportamento irregular, alternando entre aumentos e reduções nos diferentes níveis inóculo. Esse padrão é mais difícil de interpretar e pode indicar algum fator externo ou ambiental que interferiu nos resultados, tornando a resposta biológica menos previsível. Apesar dessa irregularidade, é possível notar que, no segundo experimento, o menor nível populacional inoculado foi aquele que resultou nos maiores valores para as características avaliadas (Figura 3).

Esses resultados destacam a importância de considerar a interação entre os fatores, pois o padrão observado no primeiro experimento, mais consistente e previsível, contrasta fortemente com o comportamento no segundo experimento. Essa diferença inesperada entre os experimentos reforça a necessidade de investigar possíveis fatores externos ou condições específicas que possam ter influenciado os resultados, principalmente no segundo ano, onde a resposta ao inóculo foi menos linear e mais difícil de explicar.





**Figura 3.** Curvas de regressão para número de ovos + J2 nas raízes secundárias, Número de ovos + J2 na casca e nas raízes secundárias de cenoura em função dos níveis populacionais inoculados, na média das cultivares, para cada experimento.

A Figura 4 apresenta as curvas de regressão para o Fator de Reprodução (FR) nas cascas e raízes secundárias em função dos níveis crescentes de inóculo, analisadas separadamente por experimento e por cultivar. Os dados mostram que o FR apresentou interação significativa com ambos os fatores, experimento e cultivar, indicando que o comportamento do FR variou de maneira distinta dependendo do período experimental e do genótipo avaliado.

Observando as curvas de regressão, fica evidente que o menor nível populacional de *M. javanica* proporcionou os maiores valores de FR para ambas as cultivares e nos dois experimentos (Figura 4). Isso sugere que níveis populacionais mais elevados de inóculo podem ter causado uma saturação ou efeito negativo, possivelmente devido ao aumento da competição entre nematoides por

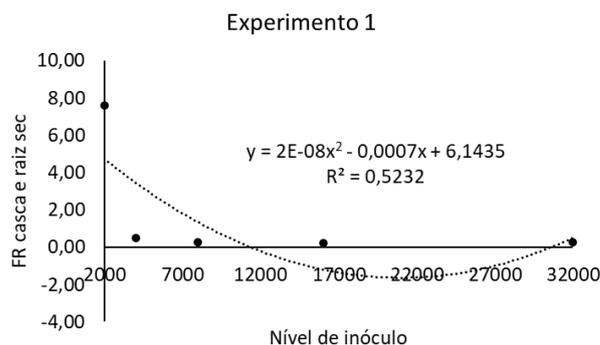
sítio de alimentação ou maior dano às raízes, comprometendo a reprodução do nematoide

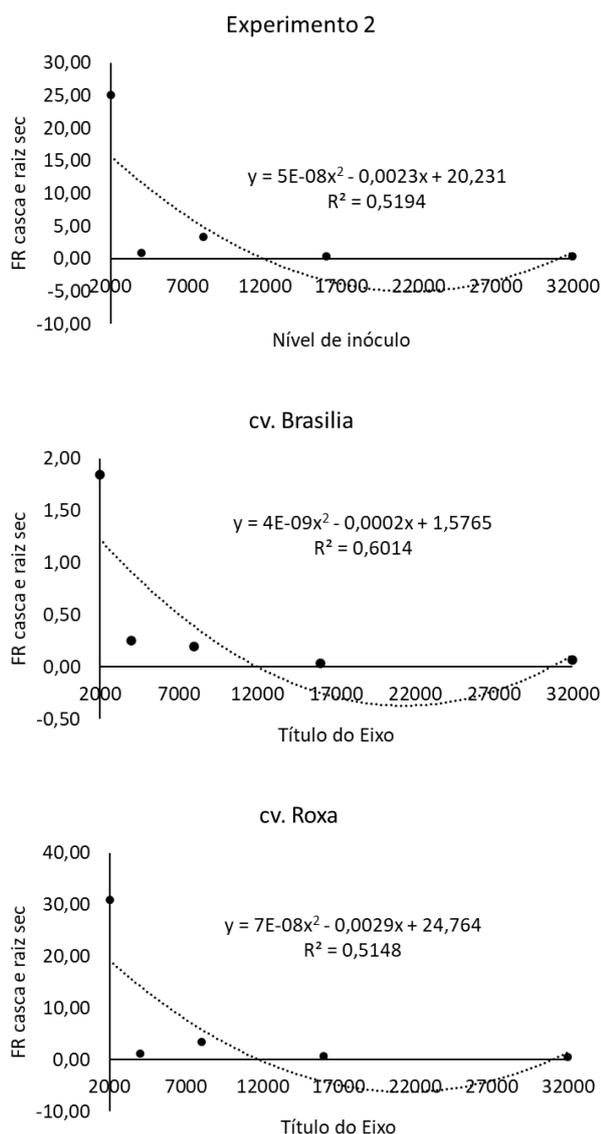
Entre os experimentos, o padrão foi semelhante, porém os valores absolutos de FR variaram, refletindo diferenças nas condições experimentais que impactaram o desempenho do FR. Para as cultivares, também foi possível identificar variações nos picos das curvas de regressão, indicando que cada cultivar responde de forma distinta às doses aos níveis populacionais inoculados (Figura 4).

Esses resultados reforçam que, apesar das diferenças observadas entre experimentos e cultivares, o menor nível populacional de inóculo foi consistentemente o mais favorável para a reprodução dos nematoides, destacando sua importância como nível ideal para maximizar o FR nas condições avaliadas.

A menor dose de inóculo foi a que resultou em maior FR, o que pode estar relacionado a uma menor competição intraespecífica entre nematoides em condições de baixa infestação.

O comportamento não linear observado no segundo experimento, em que houve um aumento exponencial em doses intermediárias seguido por um declínio, está alinhado ao que foi relatado por Cook e Evans (1987). Essas variações podem ser atribuídas a mudanças nas interações planta-nematoide sob diferentes condições ambientais ou estruturais do solo. Vale ressaltar que o período compreendido na condução do segundo experimento coincide com temperaturas mais baixas. Adicionalmente, Hussey e Barker (1973) sugerem que flutuações nesse padrão de resposta podem ser influenciadas por mudanças na resistência da planta em função da pressão do inóculo.





**Figura 4.** Curvas de regressão para o Fator de Reprodução na casca e raízes secundárias em função dos níveis de inóculo, para cada Experimento e para cada cultivar. Embrapa Hortaliças, 2024

A Tabela 4 apresenta os resultados da análise de variância conjunta para diferentes características avaliadas na cultivar de tomateiro Rutgers, que foi incluída no experimento para avaliar a viabilidade do inóculo. Os dados indicam que houve interação significativa entre os fatores inóculo e experimento para todas as características avaliadas, o que sugere que a resposta da cultivar aos níveis populacionais crescentes de inóculo variou entre os dois experimentos.

Para a massa de raiz (g), os quadrados médios mostram significância para o inóculo (95,04\*), experimento (368,39\*), e sua interação (50,74\*). Isso indica que os níveis populacionais inoculados influenciaram o peso das raízes (g) de forma distinta em cada experimento. No

Experimento 1, a média foi significativamente maior (10,21 g) em comparação ao Experimento 2 (4,15 g), sugerindo um padrão de resposta diferente em cada período (Tabela 4).

O índice de galhas (IG) também apresentou interação significativa (3,53\*), embora as médias gerais entre os experimentos tenham sido semelhantes (Tabela 4). Esse comportamento evidencia que, apesar de valores médios próximos, as doses de inóculo podem ter influenciado a formação de galhas de maneira distinta nos dois experimentos.

O índice de massa de ovos (IMO) e o número de ovos + juvenis por grama de raiz (N ovos+j2 raiz) também mostraram interações significativas (2,78\* e 7,80E+7\*, respectivamente). No Experimento 1, os valores de IMO foram levemente superiores (4,55) em relação ao Experimento 2 (4,10), enquanto o número de ovos e juvenis foi maior no segundo experimento (6576,61) (Tabela 4). Essa diferença entre os padrões de resposta destaca a influência das condições experimentais sobre essas características.

Por fim, o fator de reprodução (FR) apresentou interação significativa (10,98\*), com a menor média registrada no Experimento 2 (5,03) em comparação ao Experimento 1 (5,94) (Tabela 4). A interação indica que a resposta das doses de inóculo foi distinta entre os experimentos, com padrões de comportamento diferentes.

A interação entre os fatores demonstra que a cultivar Rutgers respondeu de maneira inconsistente aos níveis de inóculo nos dois experimentos, o que não seria ideal para a interpretação homogênea dos resultados. Explicar essas diferenças requer avaliar fatores externos ou condições específicas que possam ter interferido no desenvolvimento das plantas e na atividade dos nematoides. Apesar disso, os resultados destacam a influência das doses crescentes de inóculo em todas as características, independentemente do padrão observado em cada experimento.

Isso reforça a complexidade das relações entre genótipo, condições ambientais e níveis de inóculo, como destacado por Trudgill e Blok (2001). Além disso, Silva et al. (2011) demonstraram que a resistência dos genótipos ao nematoide-das-galhas pode variar significativamente com base em diferenças genéticas e condições experimentais, sublinhando a necessidade de incluir múltiplos genótipos em experimentos para capturar a amplitude de respostas possíveis.

**Tabela 4.** Quadrados médios e significâncias dos efeitos de tratamentos e interações pela análise de variância conjunta para o tomateiro Rutgers, incluído na pesquisa para verificar a viabilidade do inóculo. Embrapa Hortaliças, 2024

	Massa raiz (g)	IG	IMO	N ovos+j2 raiz	FR
Inóculo	95,04*	4,538*	4,98*	2,74E+7	193,13*
Experimento	368,39*	0,03	2,03*	0,20E+7	8,21*
Inóc x Exp	50,74*	3,53*	2,78*	7,80E+7*	10,98*
Resíduo	9,10	0,16	0,36	2,52E+7	8,94
CV	21,86	4,82	6,98	35,21	20,05
Média geral	7,18	4,28	4,33	6348,80	5,48
Média geral Exp1	10,21 a	4,30 a	4,55 a	6120,99 a	5,94 a
Média geral Exp2	4,15 b	4,25 a	4,10 b	6576,61 a	5,03 b

Massa raiz (g): massa das raízes, IG: índice de galhas, IMO: índice de massa de ovos, N ovos+j2 raiz: número de ovos e juvenis por grama de raiz, FR: fator de reprodução dos nematoides. \*Significativo a  $p \leq 0,05$  pelo teste F. CV: coeficiente de variação. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferiram a  $p \leq 0,05$  pelo teste t.

### Conclusão:

Os resultados deste estudo destacam a importância de usar cultivares resistentes como estratégia central para o controle de nematoides-das-galhas (*Meloidogyne spp.*) na cultura da cenoura (*Daucus Carota L.*). Nos experimentos a cultivar 'Brasília' demonstrou ser mais resistente em resposta ao ataque de *Meloidogyne javanica*, já que apresentou baixa reprodução dessa espécie. Por outro lado, a cultivar de cenoura 'Roxa' foi identificada como altamente suscetível, apresentando um número elevado de ovos e juvenis, especialmente em situações de maior infestação pelo aumento dos níveis.

### Referências:

- ABAD, P. et al. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Nature Biotechnology*, v. 26, n. 8, p. 909–915, 27 jul. 2008.
- ABRÃO, M. M.; MAZZAFERA, P. Efeitos do nível de inóculo de *Meloidogyne incognita* em algodoeiro. *Bragantia*, v. 60, n. 1, p. 19–26, 2001.
- AGRIOS, G. *Plant pathology*. 5. ed. San Diego: Academic Press, 2005.
- BARKER, K. R.; OLTHOF, T. H. A. Relationships between nematode population densities and crop responses. *Annual Review of Phytopathology*, v. 14, n. 1, p. 327–353, set. 1976.
- BONETTI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, v. 6, p. 553-553, 1981.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A. Caracterização isoenzimática e variabilidade intraespecífica dos nematoides das galhas do cafeeiro no Brasil. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000, Poços de Caldas. Anais [...]. Brasília, DF: Embrapa Café, 2000. p. 280-282.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; MOREIRA, W. A.; ALMEIDA, M. R. A.; GOMES, A. C. M. M. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. *Nematologia Brasileira*, v. 25, n. 2, p. 223-228, 2001.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; QUÉNÉHERVÉ, P.; ALMEIDA, M. R. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne spp.* populations. *Nematology*, v. 2, n. 6, p. 645–654, 2000.
- CHITWOOD, D. J. Nematicides. In: PLIMMER, J. R.; GAMMON, D. W.; RAMADAN, A. (Ed.). *Encyclopedia of Agrochemicals*. Hoboken: John Wiley & Sons, 2003. p. 1104–1115.

Os dados mostraram que o nível de 2000 ovos por planta é o melhor para avaliar a resistência dos genótipos. Esse nível é eficaz para diferenciar o desempenho entre cultivares resistentes e suscetíveis, além de fornecer informações sobre como cada cultivar responde ao ataque dos nematoides.

E por fim, vale ressaltar que este estudo é uma contribuição não somente para o avanço do conhecimento científico na área de Fitopatologia e Genética de Plantas, mas também oferecer subsídios práticos para a agricultura sustentável.

### Agradecimentos:

Quero agradecer, primeiramente, a Deus, em segundo a minha família, meus pais, minha mãe Neide, meu pai, Manoel, pelo apoio incondicional. Agradeço também ao meu orientador e amigo, Jadir, por todo o suporte e auxílio durante esses anos de estágio, serei eternamente grato. Agradeço também, ao meu companheiro Welbert, por ser essa pessoa incrível que sonha junto comigo, eu sou muito grato por toda a parceria. E aos meus professores durante todo o curso, em especial a Luciana, Ricardo, Felipe, Rayane e Christian, agradeço o conhecimento compartilhado. São pessoas admiráveis.

- CHITWOOD, D. J. Phytochemical-based strategies for nematode control. *Annual Review of Phytopathology*, v. 40, n. 1, p. 221–249, 13 set. 2002.
- COOK, R.; EVANS, K. Resistance and tolerance. In: BROWN, R. H.; KERRY, B. R. (Eds.). *Principles and practice of nematode control in crops*. London: Academic Press, 1987. p. 179-231.
- DECRAEMER, W.; HUNT, D. J. Estrutura e classificação. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. (Ed.). *Nematologia de Plantas*. Wallingford: CABI, 2006. p. 3-32.
- ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology*, v. 22, n. 1, p. 10, 1990.
- FERREIRA, L. S.; LOPES, E. A.; SOUSA, M. A. Manejo integrado de nematoides em culturas agrícolas: estratégias e impactos ambientais. *Revista Brasileira de Nematologia*, v. 38, n. 2, p. 45-56, 2014.
- FERRIS, H.; BONGERS, T.; DE GOEDE, R. G. M. A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. *Applied Soil Ecology*, v. 18, n. 1, p. 13–29, set. 2001.
- FERRIS, H.; VENETTE, R. C.; LAU, S. S. Population energetics of bacterial-feeding nematodes: Carbon and nitrogen budgets. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 29, n. 8, p. 1183–1194, ago. 1997.
- GOMEZ, K. A.; GOMEZ, A. A. *Statistical Procedures for Agricultural Research*. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 1984.
- HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter*, v. 57, n. 12, p. 1025–1028, 21 jan. 1973.
- JONES, J. T.; HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G.; HELDER, J.; JONES, M. G.; PERRY, R. N. Os 10 principais nematoides parasitas de plantas em patologia molecular de plantas. *Molecular Plant Pathology*, v. 14, n. 9, p. 946-961, 2013.
- OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. *Mededelingen Landbouw*, v. 66, p. 1-46, 1966.
- PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. *Nematoides de nó de raiz*. Wallingford: CABI, 2018.
- PINHEIRO, J. B. *Nematoides em hortaliças*. Brasília: Embrapa, 2017. p. 194.
- POUDYAL, D. S. et al. Effect of inoculum density of rice root-knot nematode on growth of rice cv. Masuli and nematode development. *Australasian Plant Pathology*, v. 34, n. 2, p. 181, 2005.
- SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, v. 30, n. 3, p. 507, set. 1974.
- SIKORA, A. R.; FERNÁNDEZ, E. Nematode parasites of vegetables. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/287459040\\_Nematode\\_parasites\\_of\\_vegetables](https://www.researchgate.net/publication/287459040_Nematode_parasites_of_vegetables). Acesso em: 30 nov. 2024.
- SILVA, G. O.; PINHEIRO, J. B.; CAVALCANTE, J. Seleção para resistência de genótipos de cenoura aos nematóides-das-galhas. *Horticultura Brasileira*, v. 29, n. 3, p. 335–341, 1 set. 2011.
- TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. *Biology, identification and control of root-knot nematodes*. North Carolina: North Carolina State University Graphics, v. 111, 1978.
- TRUDGILL, D. L.; BLOK, V. C. Apomictic nematodes: their impact on plant-parasitic nematodes and agricultural systems. In: HARTMAN, K. M.; SIKORA, R. A.; MANSOURI, E. (Eds.). *Plant nematology*. Wallingford: CABI Publishing, 2001. p. 37-50.
- WILLIAMSON, V. M.; HUSSEY, R. S. Nematode pathogenesis and resistance in plants. *The Plant Cell*, v. 8, n. 10, p. 1735–1745, out. 1996.

## ANEXOS\*\*



















CV. ROZAN  
M.J.  
2000  
R6

CV. ROZAN  
M.J.  
2000  
R3



Cv. Branka  
MJ  
2000  
86



CV. Bransica  
M.J.  
4.000  
R3

CV. Bransica  
M.J.  
4.000  
R4



Cv. Brasilica  
M.J.  
8.000  
R5

Cv. Brasilica  
M.J.  
8.000  
R2



CV. Branca  
M.J  
32.000  
R2

CV. Branca  
M.J  
32.000  
R5





















