

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**  
**Centro de Ciências Humanas e Naturais**  
**Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal**

**WILKA MESSNER DA SILVA BISPO**

**Respostas fisiológicas de goiabeira ‘Paluma’ parasitada  
por *Meloidogyne mayaguensis* sob condições controladas  
e de campo**

**VITÓRIA - ES**

**2010**

**WILKA MESSNER DA SILVA BISPO**

**Respostas fisiológicas de goiabeira 'Paluma' parasitada por *Meloidogyne mayaguensis* sob condições controladas e de campo**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal, na área de concentração de Fisiologia Vegetal

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. DSc. Adelaide de Fátima Santana da Costa

Co-orientador: Prof. DSc. José Aires Ventura

**VITÓRIA - ES**

**2010**

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)  
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

B622r Bispo, Wilka Messner da Silva, 1985-  
Respostas fisiológicas de goiabeira 'Paluma' parasitada por  
*Meloidogyne mayaguensis* sob condições controladas e de  
campo / Wilka Messner da Silva Bispo. – 2010.  
78 f. : il.

Orientadora: Adelaide de Fátima Santana da Costa.

Co-Orientador: José Aires Ventura.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Espírito  
Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais.

1. Goiaba. 2. *Psidium guajava*. 3. Nematoda em plantas. 4.  
*Meloidogyne enterolobii*. 5. Fluorescência. 6. Clorofila. 7. Relação  
hospedeiro-parasito. I. Costa, Adelaide de Fátima S. da (Adelaide  
de Fátima Santana da), 1958-. II. Ventura, José Aires, 1954-. III.  
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências  
Humanas e Naturais. IV. Título.

CDU: 57

---

**WILKA MESSNER DA SILVA BISPO**

**Respostas fisiológicas de goiabeira 'Paluma' parasitada por *Meloidogyne mayaguensis* sob condições controladas e de campo**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal, na área de concentração de Fisiologia Vegetal

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. DSc. Adelaide de Fátima Santana da Costa

Co-orientador: Prof. DSc. José Aires Ventura

Aprovada em \_\_\_ de \_\_\_ de 2010

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. DSc. Adelaide de Fátima Santana da Costa  
Universidade Federal do Espírito Santo/Instituto Capixaba de  
Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural - Incaper  
(Orientadora)

---

Prof. DSc. José Aires ventura  
Universidade Federal do Espírito Santo/Instituto Capixaba de  
Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural - Incaper  
(Co-orientador)

---

Prof. DSc. Jurandi Gonçalves de Oliveira  
Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro  
(Examinador externo)

---

Prof. DSc. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol  
Universidade Federal do Espírito Santo  
(Examinador interno)

Aos meus pais e ao meu irmão.  
Tudo por vocês.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, meu irmão e minha avó, por toda a força, amor e pelo apoio incondicional recebido em todos os momentos da minha vida;

Aos meus amigos e ao meu namorado Gabriel, também pelo apoio incondicional;

Aos meus orientadores, pela oportunidade e pelo apoio recebido durante a realização deste trabalho;

À professora Diolina Moura Silva, por ter me acolhido no Núcleo de Estudos da Fotossíntese (NEF), pelos inúmeros conselhos e, principalmente, por todos os ensinamentos;

Ao Prof. DSc. Antelmo Ralph Falqueto, por toda a colaboração em campo, pela minuciosidade e competência em todas as suas colocações e, principalmente, por ter sido um verdadeiro anjo da guarda;

Ao pesquisador MSc. Inorbert de Melo Lima, por ter sido um grande professor, grande amigo e, muitas vezes, psicólogo;

À Família NEF, que esteve sempre presente me aconselhando e incentivando, sempre com muito carinho;

À Beth, pessoa muito querida, por todas as histórias e desabafos e, claro, pelo cafezinho maravilhoso;

Ao Ricardo Celestino, secretário do Programa, por TUDO. Um super parceiro.

E a todos aqueles que direta e indiretamente auxiliaram para que as páginas dessa dissertação fossem escritas,

MUITO OBRIGADA!

## RESUMO

No Espírito Santo, a fruticultura é uma atividade de grande expressão social e econômica, respondendo por grande parte da receita agrícola do Estado. Tendo em vista a importância deste segmento da economia, torna-se necessária a busca por uma maior diversificação das culturas e a cultura da goiabeira tem-se mostrado como uma alternativa bastante rentável, pois é uma fruta que apresenta grande potencial produtivo e de venda, o que torna relevante o conhecimento de suas características positivas e de suas limitações para que ocorra uma ampliação do mercado. Existem nas regiões produtoras da fruta, entretanto, problemas de natureza fitossanitária, capazes de afetar o desenvolvimento e a produtividade das áreas de cultivo. A susceptibilidade da goiabeira ao nematóide-das-galhas recebe destaque. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do nematóide *Meloidogyne mayaguensis* (Sin.: *M. enterolobii*) sobre goiabeiras por meio da análise de cinética de emissão da fluorescência; teor de pigmentos fotossintéticos e crescimento, correlacionando as alterações morfológicas às alterações fisiológicas apresentadas pelas plantas submetidas às condições de campo e em casa de vegetação. Em campo, as plantas parasitadas apresentaram menor eficiência fotoquímica em comparação às plantas saudáveis. Tendência semelhante foi observada para os teores de pigmentos foliares, nos quais as plantas saudáveis apresentaram os maiores valores de clorofilas a e b e carotenóides, sendo cerca de 1,5 vezes o valor encontrado para as plantas sintomáticas. A deficiência no desempenho fotoquímico das plantas refletiu também na baixa capacidade produtiva das plantas parasitadas e na formação de frutos de menor calibre. As plantas saudáveis foram cerca de 2 vezes mais produtivas que as plantas assintomáticas e 6,5 vezes mais produtivas que as sintomáticas. No início do desenvolvimento vegetativo, não foram observadas alterações visuais na parte aérea das plantas parasitadas, tanto em relação às medidas de crescimento quanto nas leituras SPAD. Esse comportamento demonstra um dos grandes problemas enfrentados pelos viveiristas, que é a não observação dos sintomas da presença dos nematóides-das-galhas nas mudas, favorecendo o comércio de mudas infectadas e a disseminação do nematóide.

Palavras-chave: goiaba, *Psidium guajava* L., nematóide, fluorescência da clorofila a, clorofilas, *Meloidogyne enterolobii*.

## ABSTRACT

The fruticulture in the Espírito Santo State is an activity of great social and economical expression, accounting for much of the agricultural income of the state. Given the importance of this economy segment, it is necessary to search for a bigger diversification of the crops, in order to keep the consumer market active. Accordingly, the guava culture has shown to be a very effective alternative in diversification, because it has a great production and sale potential, which makes relevant the knowledge of their positive features and their limitations, with the purpose of expanding the market. There are, however, many phytosanitary problems in the regions of production, and these problems are capable to affect the development and the productivity of the cultivated areas. The crop sensitivity to root-knot nematodes is highlighted. So, this work aimed to evaluate the nematode effect of *Meloidogyne mayaguensis* (Sin.: *M. enterolobii*) on the plants by analyzing the kinetics of the transient chlorophyll a fluorescence emission, photosynthetic pigments contents and growth, correlating morphological and physiological changes in the plants, both under field and greenhouse conditions. In the field, the infested plants showed lower photochemical efficiency in comparison to healthy plants, in both periods. The levels of leaf pigments showed a similar trend to that found in photochemical responses. The healthy plants had higher values of chlorophyll a and b and carotenoids, about 1.5 times higher than the value found for the symptomatic ones. Deficiencies in the photochemical performance of the parasitized plants also reflected in the low productivity and in the formation of smaller fruits. The healthy plants were about 2 times more productive than the asymptomatic and 6.5 times more productive than the symptomatic plants. It was also noted that, in the greenhouse, at the beginning of the vegetative growth, there were no visual changes in the shoots of plants infested either for growth and SPAD readings. This behavior demonstrates one of the major problems faced by nurseries, which is the non-observation of the root-knot nematode symptoms in short-term, which encourage the trade of infected plants and the nematode dissemination.

Keywords: guava, *Psidium guajava* L., nematode, chlorophyll a fluorescence, chlorophylls, *Meloidogyne enterolobii*.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Modelo das possíveis direções seguidas pela luz após absorção pelas moléculas de clorofilas associadas ao fotossistema II. ....	24
<b>Figura 2</b> – Disposição das mudas clonais de goiabeira cv. Paluma em casa de vegetação.....	27
<b>Figura 3</b> – Aspecto geral dos grupos analisados: plantas saudias, plantas parasitadas e assintomáticas e plantas parasitadas e sintomáticas.....	30
<b>Figura 4</b> – Medidas referentes ao crescimento de plantas jovens de goiabeira cv. Paluma em casa de vegetação (Figura 1).....	48
<b>Figura 5</b> – Parâmetros componentes do $PI_{TOTAL}$ (Figura 2).....	49
<b>Figura 6</b> – Comportamento ao longo do experimento das constantes de dissipação fotoquímica e não fotoquímica de energia (Figura 3).....	50
<b>Figura 7</b> – Comprometimento radicular de goiabeiras cv. Paluma parasitadas por <i>M. mayaguensis</i> (Figura 4).....	51
<b>Figura 8</b> – Parâmetros relativos à emissão de fluorescência da clorofila <i>a</i> em ramos reprodutivos e vegetativos de goiabeira cv. Paluma (Figura 1).....	68
<b>Figura 9</b> – Parâmetros relativos à emissão de fluorescência da clorofila <i>a</i> em goiabeira cv. Paluma nos períodos pré e pós-colheita (Figura 2) .....	69

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Teor de clorofila total em plantas jovens de goiabeira cv. Paluma em casa de vegetação (Tabela 1)..... 47
- Tabela 2** – Teores e relações entre pigmentos foliares em plantas de goiabeira cv. Paluma nos períodos pré e pós-colheita (Tabela 1) ..... 66
- Tabela 3** – Valores médios referentes ao diâmetro longitudinal, diâmetro equatorial e estimativa da produção em pomar de goiabeira cv. Paluma infestado com *Meloidogyne mayaguensis* (Tabela 2) ..... 66
- Tabela 4** – Valores médios referentes aos sólidos solúveis, acidez titulável e relação SS/AT de frutos da de goiabeiras cv. Paluma sadias e parasitadas por *Meloidogyne mayaguensis* (Tabela 3) ..... 67
- Tabela 5** – Valores médios referentes à perda de matéria fresca de frutos da de goiabeiras cv. Paluma sadias e parasitadas ao longo do experimento (Tabela 4) ... 67

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**ABS/RC** = Fluxo específico de absorção por centro de reação

**AT** = Acidez titulável

**cv.** = Cultivar

**Chl a** = Clorofila a

**Chl b** = Clorofila b

**Chl** = Clorofila total

**Carot.** = Carotenóides

**DI<sub>0</sub>/RC** = Fluxo de energia dissipada por centro de reação

**DMSO** = Dimetilsulfóxido

**ET<sub>0</sub>/RC** = Fluxo de transporte de elétrons por centro de reação, no tempo zero

**ET<sub>0</sub>/TR<sub>0</sub> =  $\Psi_0$**  = Probabilidade (no tempo zero) de um exciton capturado pelo RC do FSII, mover um elétron na cadeia de transporte para além de Q<sub>A</sub><sup>-</sup>

**F<sub>M</sub>** = Fluorescência máxima, quando todos os centros de reação do FSII estão fechados

**F<sub>0</sub>** = Fluorescência inicial (fluorescência mínima), quando todos os centros de reação do FSII estão abertos

**FSI** = Fotossistema I

**FSII** = Fotossistema II

**F<sub>V</sub>/F<sub>M</sub> =  $\phi_{P_0}$**  = Rendimento quântico potencial do fotossistema II

**F<sub>V</sub>/F<sub>0</sub> =  $\phi_{P_0}/(1 - \phi_{P_0})$**  = Rendimento quântico efetivo do fotossistema II

**Kn** = Constante de dissipação não fotoquímica da energia absorvida

**Kp** = Constante de dissipação fotoquímica da energia absorvida

**MS** = Massa seca

**PI<sub>ABS</sub>** = Índice de desempenho, calculado com base na absorção (ABS) da energia luminosa

**PI<sub>TOTAL</sub>** = Índice de desempenho, calculado com base no transporte de elétrons até o acceptor final do FSI

**PMF** = Perda de matéria fresca

**Q<sub>A</sub>** = Quinona A, acceptor primário de elétrons do FSII

**Q<sub>A</sub><sup>-</sup>** = Quinona A reduzida

**RC** = Centro de reação

**RC/ABS** = Densidade de centros de reação expressos com base na absorção

**RC/CS<sub>0</sub>** = Quantidade de centros de reação ativos por sessão transversal no tempo igual ao tempo para alcançar F<sub>M</sub>

**SS** = Sólidos solúveis

**SS/AT** = Razão entre sólidos solúveis e acidez titulável

**TR<sub>0</sub>/RC** = Fluxo de energia capturada por centro de reação, no tempo zero

**Ψ<sub>0</sub>/(1- Ψ<sub>0</sub>)** = Performance das reações de oxi-redução após a redução de Q<sub>A</sub><sup>-</sup>

**δ<sub>0</sub>/(1 - δ<sub>0</sub>)** = Representativo da eficiência com que um elétron pode mover-se do acceptor de elétron reduzido do intersistema para o acceptor final do fotossistema I

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	16
2.1 PANORAMA GERAL DA CULTURA DA GOIABEIRA .....	16
2.2 ASPECTOS BOTÂNICOS E ECOLÓGICOS DA GOIABEIRA.....	17
2.3 NEMATÓIDES-DAS-GALHAS .....	19
2.3.1 <b>Gênero <i>Meloidogyne</i> no Brasil</b> .....	22
2.4 FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA <i>a</i> COMO INDICADORA DE ESTRESSE ..	24
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	27
3.1 EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO .....	27
3.1.1 <b>Área experimental e material vegetal</b> .....	27
3.1.2 <b>Determinação dos tratamentos</b> .....	28
3.1.3 <b>Análises estatísticas</b> .....	28
3.2 EXPERIMENTO EM CAMPO.....	29
3.2.1 <b>Área experimental e material vegetal</b> .....	29
3.2.2 <b>Determinação dos tratamentos</b> .....	29
3.2.3 <b>Análises estatísticas</b> .....	29
3.3 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS.....	30
3.3.1 <b>Análise da fluorescência da clorofila <i>a</i></b> .....	30
3.3.2 <b>Teores de pigmentos foliares</b> .....	31

3.3.2.1 Experimento em casa de vegetação .....	31
3.3.2.2 Experimento em campo.....	32
<b>3.3.3 Medidas de crescimento em casa de vegetação .....</b>	<b>32</b>
<b>3.3.4 Estimativa da produção em campo .....</b>	<b>33</b>
<b>3.3.5 Pós-colheita dos frutos.....</b>	<b>33</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
4.1 PRIMEIRO ARTIGO.....	36
4.2 SEGUNDO ARTIGO .....	52
<b>5 CONCLUSÕES .....</b>	<b>70</b>
<b>6 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>71</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Em função de suas condições edafoclimáticas, o Brasil apresenta um enorme potencial para a produção de frutas voltadas ao mercado mundial (NACHREINER; SANTOS; BOTEON, 2002). O país é hoje considerado o terceiro produtor mundial de frutas, atrás apenas da China e Índia, com aproximadamente 43 milhões de toneladas ao ano, cultivadas em área estimada em 2,2 milhões de hectares e gerando cerca de 4 milhões de empregos. As exportações alcançam 2% da produção nacional (SINIMBU, 2008) e potencializam a cadeia produtiva brasileira, resultando em aumento da área plantada, em melhoria da qualidade da produção e tecnologia usada pelo setor, além de maior profissionalização durante a comercialização (VIANA; BARCHET; SOUZA, 2008). Em 2008 a produção de frutas no país superou a marca de 43 milhões de toneladas, representando 5% da produção mundial (SINIMBU, 2008).

O Estado do Espírito Santo tem na fruticultura uma das principais atividades econômicas, e esta vem ganhando destaque nacional. O Estado apresenta todo o elo da cadeia produtiva de frutas, desde a produção pelos pequenos agricultores até o consumidor final, passando por fábricas de processamento de polpas de frutas e indústria de sucos prontos. Além disso, sua localização estratégica no cenário logístico e econômico permite que o Estado consiga atender pelo menos 50% do mercado das grandes capitais. Localizado na região Sudeste, o Espírito Santo integra-se com os estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo, os quais são pertencentes à chamada Faixa de Desenvolvimento da Região Sudeste (MOYSÈS, 2006).

Associada a essa proximidade com o mercado interno e à facilidade de exploração dos mercados externos, atualmente, a fruticultura é considerada uma das principais atividades econômicas do Espírito Santo, dando espaço apenas para a cafeicultura como formadora de renda no setor rural (SCHUERMANN, 2008). A exportação de frutas resulta em inúmeros benefícios econômicos e sociais, gerando produtos de alto valor comercial, além de excelentes expectativas de mercado interno e externo (COSTA; PEIXOTO; FERNANDES, 2007). Em 2009, a fruticultura no Estado do Espírito Santo correspondeu a 17% do valor bruto da produção agropecuária do

Estado. Com 85 mil hectares ocupados e uma produção anual de 1,3 milhão de toneladas, a fruticultura gerou R\$ 600 milhões em renda no Espírito Santo (JÚNIOR, 2009).

O Estado do Espírito Santo apresenta excelentes condições para o cultivo comercial de diversas espécies de frutas (NEVES, 2006) e, dentre elas, uma alternativa encontra-se na cultura da goiabeira (*Psidium guajava* L), atividade de alta rentabilidade e grande possibilidade de expansão no país (COSTA; PEIXOTO; FERNANDES, 2007). Segundo Manica et al. (2000), a goiabeira no Brasil pode ser cultivada em todo o território nacional, em pomares domésticos ou comerciais, em quase todos os tipos de climas e de solos, sendo caracterizada, como uma planta rústica. São encontrados pomares, das mais diversas cultivares, desde o estado do Rio Grande do Sul até o Maranhão, com destaque para São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Pernambuco.

O Pólo de Produção de goiaba para Indústria no Espírito Santo está localizado no município de Pedro Canário, Região Norte do Estado, e foi criado em 2003 com o objetivo de alcançar uma produção em torno de 10,5 mil toneladas por ano, com o plantio de 120 mil mudas da goiabeira 'Paluma' em uma área de aproximadamente 300 ha (SERRANO et al., 2007). Existem nas regiões produtoras, entretanto, problemas de natureza fitossanitária, capazes de afetar o desenvolvimento e a produtividade desta cultura, comprometendo a qualidade do fruto no campo, durante o transporte ou no armazenamento. Entre as doenças destaca-se a susceptibilidade aos nematóides formadores de galhas, os quais são capazes de invadir o sistema radicular da planta hospedeira e migrar de maneira intra ou intercelular até células do cilindro vascular, as quais podem ser modificadas nas chamadas células gigantes e adquirem a função de sítios de alimentação. Essas células são formadas por sucessivas divisões nucleares associadas a não ocorrência de citocinese (GODDIJN et al., 1993).

Os nematóides-das-galhas são de difícil controle devido ao fato de viverem no interior de raízes e possuírem grande número de hospedeiros, como a soja, a goiaba, o café e algumas plantas daninhas (CID; CARNEIRO, 2007). Grandes regiões de cultivo são inviabilizadas com a presença deste patógeno, podendo

haver reduções de mais de 50% em área plantada (MOREIRA, 2003a). Devido à biologia e ao modo de dispersão dos nematóides, a maneira mais indicada de se proteger as áreas de cultivo é a promoção de um controle preventivo, associando-o a práticas adequadas de manejo. A meloidoginose ou nematóide-das-galhas da goiabeira, causada pela espécie *Meloidogyne mayaguensis* (Sin.: *M. enterolobii*), muitas vezes não se manifesta nas mudas quando ainda dispostas nos viveiros, e só vão ocorrer os sintomas tardiamente no campo, em função das condições climáticas (a et al., 2007a). Logo, os estudos relacionados à dispersão desse patógeno e à sua detecção ainda em mudas contribuem com o alerta aos produtores e outros segmentos envolvidos com a exploração comercial do fruto sobre o risco da comercialização de mudas infectadas (LIMA et al., 2007b; LIMA, 2008).

No Espírito Santo, a presença do nematóide foi constatada por Lima et al. (2007a, 2007b) e vem representando um grande desafio aos produtores de goiaba da região pelos efeitos negativos na produção e sobre a vida útil das plantas (LIMA et al., 2008). Deste modo, tornam-se necessários estudos que visem alicerçar e viabilizar informações a respeito do nematóide-das-galhas da goiabeira não só em campo, mas principalmente em condições de casa de vegetação, a fim de se viabilizar futuramente métodos eficazes na detecção da doença anteriormente a utilização das mudas infectadas nos pomares comerciais.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 PANORAMA GERAL DA CULTURA DA GOIABEIRA

A fruticultura no Estado do Espírito Santo é uma atividade agrícola recente, quando comparada à cafeicultura e à pecuária. Nos últimos dez anos, entretanto, essa atividade foi responsável pela diversidade agrícola de vários municípios, principalmente aqueles localizados na região Norte do Estado, gerando renda e tributos e contribuindo para o desenvolvimento social e econômico, permitindo a melhoria de qualidade de vida dos agricultores de base familiar da região. Atualmente ocupa uma área de 85 mil hectares, gerando cerca de 50 mil empregos diretos (SILVA, 2003; MARTINS, 2009).

O Norte do Espírito Santo possui culturas de grande destaque como a do mamão, entretanto, segundo Silva (2003), a necessidade de diversificação agrícola provoca a busca por novas alternativas, e a cultura da goiabeira se destaca neste sentido. A goiaba permite o atendimento de diferentes setores da economia, podendo ser consumida sob a forma *in natura* ou industrializada. O aumento no consumo de frutas de mesa e de sucos naturais é uma tendência mundial que pode ser aproveitada como um incentivo para uma produção de qualidade (ZAMBÃO; BELLINTANI NETO, 1998; PIO et al, 2001).

Sendo a goiabeira originária de regiões tropicais, o Brasil apresenta diversas áreas de clima e solo favoráveis à produção comercial, sendo este um aspecto importante, tanto pela formação de frutos de alto valor nutritivo quanto pelo aumento da perspectiva da produção agrícola, ampliação da atividade industrial e aumento do potencial de exportação (ROZANE; OLIVEIRA; LIRIO, 2003).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de goiaba e os Estados de São Paulo, Minas Gerais e Pernambuco respondem juntos por aproximadamente 74% da produção nacional. Entretanto, no cenário agrícola mundial, a goiaba é pouco comercializada e tem sido exportada quase que exclusivamente para a Europa e Estados Unidos, considerados os maiores mercados consumidores de produtos hortifrutícolas do mundo. A fruta e seus derivados são considerados exóticos e a

comercialização é realizada em escala mínima e a preços elevados, tornando o mercado restrito em relação ao de outros produtos frutícolas tradicionalmente comercializados no mercado internacional (ROZANE; OLIVEIRA; LIRIO, 2003, PIO et al., 2001). Deste modo, torna-se necessário o aumento da competitividade produtiva e comercial da goiaba e seus derivados, pela possibilidade de alavancar um grande volume de produção e exportação, proporcionando divisas para o País e gerando milhares de empregos em toda a cadeia produtiva (PROJETOS..., 2003).

## 2.2 ASPECTOS BOTÂNICOS E ECOLÓGICOS DA GOIABEIRA

A goiabeira é um arbusto capaz de atingir de 3 a 6 metros de altura. É possuidora de um caule de coloração marrom-esverdeada, que torna-se castanho-arroxeadado na fase adulta. As flores são brancas, hermafroditas, sem glândulas nectíferas e que podem formar botões isolados ou em ráceros de dois ou três, geralmente organizados nas axilas das folhas. Estas, por sua vez, possuem filotaxia oposta e apresentam formato elíptico-oblongo, com a presença de glândulas oleíferas. São também curto pecioladas, ligeiramente espessas e coriáceas, e sua coloração pode variar entre verde-clara, verde-escura e verde-amarelada. A frutificação inicia-se no segundo ou terceiro ano após o plantio, e os frutos são do tipo baga, apresentando tamanho, forma e coloração de polpa variáveis, em função da característica de cada cultivar (SOUZA; MANCIN; MELO, 2009; COSTA; PACOVA, 2003).

É uma planta pertencente ao gênero *Psidium*, encontrado na família Myrtaceae, a qual é composta por mais de 70 gêneros e 2.800 espécies, sendo de 110 a 130 espécies naturais da América Tropical e Subtropical. Dentre as mais de 150 espécies do gênero, *Psidium guajava* L. é a espécie comercial mais plantada e de maior valor econômico (COSTA; PACOVA, 2003). Possui elevada capacidade de dispersão e adaptação, características que possibilitaram a colonização de diferentes áreas nas regiões tropicais e subtropicais do globo (MENZEL, 1985). Segundo Manica (apud PEREIRA; MARTÍNEZ JÚNIOR, 1986), apesar de ser nativa de região tropical, goiabeira é capaz de produzir desde o nível do mar até cerca de 1.700 m, sendo amplamente difundida no país. Encontram-se pomares comerciais

de goiabeira do Rio Grande do Sul ao Nordeste brasileiro, o que demonstra sua ampla adaptação climática.

Existem, entretanto, condições ótimas capazes de promover a produtividade ideal. A temperatura, por exemplo, não só limita, mas determina a época de produção da goiabeira, e seu ponto ótimo encontra-se entre 25°C e 30°C . A goiabeira não tolera geadas e temperaturas muito baixas, as quais podem causar queimaduras de folhas e ramos, reduzindo o potencial de desenvolvimento e produção da planta. É uma planta capaz de adaptar-se aos mais variados tipos de solo, porém, os mais adequados para seu cultivo são os areno-argilosos profundos, bem drenados, ricos em matéria orgânica e com pH em torno 5,5 a 6,0. O tipo de solo também determina, em parte, a disponibilidade de água, e a goiabeira necessita, por ano, de no mínimo 600 mm de água de precipitação, sendo que valores inferiores devem ser suplementados com irrigação. Estes fatores, associados a uma radiação luminosa satisfatória, garantem um vigoroso crescimento vegetativo e a produção de frutos de qualidade (SOUZA; MANCINI; MELO, 2009; COSTA; PACOVA, 2003).

A goiaba é um fruto que apresenta grande importância alimentar. Possui alto valor nutritivo, sendo rica em zinco, fósforo, cálcio, ferro, selênio, cobre, magnésio, ácido fólico, fibras, além de ser fonte de vitaminas como A, B<sub>1</sub> (Tiamina), B<sub>2</sub> (Riboflavina) e B<sub>6</sub> (Piridoxina) (PEREIRA, 2003). É a fruta que apresenta um dos mais altos teores de vitamina C e, dentre as variedades existentes, as maiores detentoras são as que apresentam coloração de polpa branca ou amarelada (SOUZA; MANCINI; MELO, 2009).

Segundo Piedade Neto (2003) e Matioli e Rodriguez-Amaya (2003), a goiaba é também importante no que se refere à utilização medicinal, sendo detentoras de teores elevados de licopeno, um carotenóide da família do betacaroteno, possuidor de ação antioxidante e muito poderoso no combate a doenças degenerativas como câncer de próstata e arteriosclerose.

### 2.3 NEMATÓIDES-DAS-GALHAS

Segundo Barbosa (2003), vários gêneros e espécies de fitonematóides são registrados para culturas de interesse comercial, chegando pelo menos a 238 espécies. Alguns exemplos são *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood, *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood, *Radopholus* Thorne sp., *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, *Helicotylenchus nannus* Steiner e *Aphelenchus avenae* Bastian e, dentre estes, os mais importantes pertencem ao gênero *Meloidogyne* Goeldi, conhecidos como nematóides-das-galhas, por provocar intumescimento no sistema radicular da planta. O nematóide-das-galhas, segundo Sasser (1980), destaca-se como um dos mais importantes patógenos para as plantas cultivadas em virtude de seu cosmopolitismo, de sua capacidade de ocupar elevado número de plantas hospedeiras e da grande dificuldade conferida às práticas de seu controle.

Para Sasser e Carter (1985), as espécies formadoras de galhas podem ser consideradas as pragas mais disseminadas capazes de limitar a produtividade agrícola no mundo, causando perdas na produção de pelo menos 5 a 10%. As espécies de *Meloidogyne*, de acordo com De Waele e Davide (1998) ocorrem, geralmente, associadas a outras espécies de nematóides fitopatogênicos. Segundo De Waele e Davide (1998) e Cofcewicz et al. (2004), espécies distintas de *Meloidogyne* podem ser observadas na mesma galha, além de poderem, também, colonizar as camadas externas do rizoma.

Plantas cultivadas de climas frios ou quentes são suscetíveis à infecção por estes nematóides (TAYLOR; SASSER, 1978), os quais são responsáveis por perdas na produção, que variam de mínimas até morte e destruição total. Para Rossi (2001), a rigorosidade da infecção é dependente da susceptibilidade da cultura, das condições ambientais, da presença de outros patógenos ou de outras espécies de nematóides, e da densidade populacional desses patógenos, podendo inviabilizar plantios subsequentes. De acordo com De Waele e Davide (1998) e Pereira (2006), a maior evidência da infecção por *Meloidogyne* é a atrofia e formação de galhas em raízes primárias e secundárias, debilitando o sistema de ancoragem da planta e levando ao tombamento da mesma. A absorção de água e nutrientes é também afetada,

influenciando negativamente o desenvolvimento normal da planta. Em *M. javanica*, por exemplo, essa perturbação no sistema radicular provoca sintomas como o amarelecimento e estreitamento das folhas, redução do crescimento das plantas e redução na produtividade. Para Moura (1996), plantas afetadas por *Meloidogyne* spp. tornam-se mais suscetíveis a outros fitopatógenos, não respondem adequadamente às técnicas e práticas de adubação e se mostram menos resistentes a estresses, especialmente o hídrico.

Mais de 2.000 espécies de plantas são parasitadas pelos nematóides-das-galhas (HUSSEY, 1985). Entre seus hospedeiros estão diversas plantas daninhas (GOWEN; QUÉNÉHERVÉ, 1990), além de plantas nativas da Mata Atlântica, tais como: carrapeta (*Guarea* sp.); acatirão (*Miconia cinnamomifolia* DC. Naudin); macuqueira (*Bathysa meridionalis* Smith et Downs) (LIMA, 2003). Dentre as culturas agrícolas hospedeiras dos nematóides estão o café, o pepino, o tomate, o feijão, o gengibre, o arroz, a mandioca, o milho, a cana-de-açúcar (EMBRAPA, 2002), e a goiaba. Os nematóides também afetam plantas ornamentais, como descrito em estudo de Costa et al. (2001), sendo os principais gêneros encontrados *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Radopholus* spp., *Rotylenchulus reniformis* Linford e Oliveira, *Cactodera* spp. e *Aphelenchoides* spp. (CHASE; KAPLAN; OSBORNE, 1983, apud COSTA et al., 2001, p. 1128).

Os nematóides-das-galhas são considerados endoparasitas sedentários e apresentam, em geral, sexos separados, com machos e fêmeas apresentando dimorfismo sexual. A reprodução é freqüentemente partenogenética, embora possa ocorrer reprodução sexuada quando as infestações tornam-se intensas, como observado em espécies como *M. hapla* e, ocasionalmente, em *M. arenaria*. O ciclo de vida dessas espécies possui seis fases: ovo, quatro fases juvenis e o adulto, sendo este macho ou fêmea, e geralmente ocorre em cerca de 25 a 40 dias, podendo haver variações nesse período, dependendo do nematóide, da planta hospedeira e de fatores ambientais, como a temperatura (WHITEHEAD, 1997; MOURA, 1996).

As fêmeas produzem, em média, 500 ovos envoltos em uma matriz gelatinosa, localizados, na maioria das vezes, externamente à raiz. Após o desenvolvimento

embrionário, o primeiro estágio juvenil passa pela primeira ecdise, e dá origem ao juvenil de segundo estágio (J2) que emerge do ovo e, ao migrar para o solo, inicia a busca por raízes para alimentação. Ao encontrar as raízes, os nematóides penetram nas extremidades e estabelecem seu sítio de alimentação nas células do parênquima. A injeção de secreções provoca a hipertrofia e hiperplasia de células, dando origem às células gigantes. O surgimento destas células é geralmente acompanhado pelo alargamento das raízes, o que resulta na formação de galhas. O juvenil prossegue, então, seu desenvolvimento, originando os estádios juvenis J3 e J4 e, finalmente, os adultos (TIHOHOD, 2000).

A maior parte destes patógenos encontra temperatura ótima para desenvolvimento entre 15°C e 30°C, sendo a temperatura ideal para a embriogênese situada por volta de 25°C e 30°C. Temperaturas muito altas ou muito baixas (superiores a 40°C e inferiores a 5°C) podem acarretar efeitos letais sobre os nematóides. As altas temperaturas podem causar a queima e o ressecamento da cutícula que envolve o nematóide, enquanto as baixas temperaturas podem causar a coagulação do citoplasma celular. Sendo assim, a temperatura deve ser encarada como um fator crítico na movimentação e infecção do patógeno (TIHOHOD, 1993).

Os nematóides contam com o homem e seus implementos e técnicas agrícolas para que ocorra sua disseminação a curtas e longas distâncias, pois, por si, movem-se poucos centímetros por ano. As águas de irrigação e o escoamento superficial são formas típicas de disseminação a curtas distâncias, enquanto o homem também contribui para essa movimentação durante a movimentação de materiais de propagação usados para plantio (MARIN; SUTTON; BARKER, 1998, apud PEREIRA, 2006, p. 4). O reconhecimento de espécies e gêneros de fitonematóides numa cultura é de grande importância para se formar um acervo de dados que são úteis nos laboratórios de diagnose e controle desses patógenos (COSTA et al., 2001).

### 2.3.1 Gênero *Meloidogyne* no Brasil

Segundo Bird (2004) e Ledger et al. (2006), os nematóides são organismos cosmopolitas, capazes de infectar, em diferentes graus, as raízes de mais de 3000 espécies de plantas. Costa et al. (2001), por exemplo, encontraram espécies de *Meloidogyne* parasitando raízes de plantas ornamentais como a planta-fantasma, a hera-verdadeira, imortele, trapoeraba-roxa e o trevo-azedo. Lima et al. (2003), por sua vez, identificaram diferentes espécies de *Meloidogyne* parasitando plantas em uma região de Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro.

Cultivos comerciais são também alvo do ataque desses fitoparasitas, como pode ser visto em um estudo de Medina et al. (2006), no qual foi feita a caracterização e identificação de várias espécies de *Meloidogyne* parasitando figueiras nos estados do Rio Grande do Sul e São Paulo. *Meloidogyne mayaguensis* foi identificado parasitando o porta-enxerto do pimentão 'Silver' e tomateiros, como mostra estudo de Carneiro et al. (2006) e na cultura da acerola, como descrito por Bueno et al. (2007), na região de Garça (SP).

Moreira et al. (2003c) realizaram um levantamento para identificar espécies de nematóides associados a fruteiras, hortaliças e ornamentais no Vale do Submédio São Francisco e verificaram que 49,12% das amostras estavam infestadas por nematóides-das-galhas, sendo que o percentual de ocorrência de *Meloidogyne* spp. nas diferentes culturas foram: goiabeira (60,8%), bananeira (*Musa* L. spp.) (27,0%), ornamentais tropicais (4,0%), abóbora (*Cucurbita maxima* Dusch.) (2,0%), uva (*Vitis* L. spp.) (2,0%), acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) (1,0%), cebola (*Allium cepa* L.) (1,0%), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (1,0%) e jerimum (*Cucurbita moschata* Duch. Ex Poiret) (1,0%).

No Brasil, o fitomematóide *M. mayaguensis* Rammah & Hirschmann foi assinalado pela primeira vez nos municípios de Petrolina (PE), Curaçá e Maniçoba (BA), em 2001, provocando sérios danos em cultivos comerciais de goiabeira e, por conta desta infestação, a região já reduziu sua área plantada de 6.000 ha, no ano 2000, para 2.500 ha, em 2003, reduzindo em mais de 50% sua produção de goiaba (CARNEIRO et al., 2001; CARNEIRO et al., 2006).

Foram também constatados por Moreira et al. (2003b), fitonematóides associados à goiabeira no Vale do Submédio São Francisco, dentre os quais, *M. mayaguensis* apresentou a maior frequência, chegando a 54,4%. No mesmo ano, Lima et al. (2003), relataram a presença de *M. mayaguensis* no município de São João da Barra (RJ) em áreas irrigadas e de solo arenoso, chegando a infestar de 50 a 100% dos cultivos de goiabeira. Segundo Almeida (2006), no estado de São Paulo, o primeiro registro de *M. mayaguensis* em goiabeira foi constatado em Vista Alegre do Alto, no ano de 2003, sendo a espécie também diagnosticada em Pirangi, Monte Azul Paulista e Jaboticabal nos dois anos seguintes. No Espírito Santo, Lima et al. (2007a, 2007b), relatou a ocorrência de intenso amarelecimento e bronzeamento foliar em goiabeiras 'Paluma' localizadas em um pomar comercial na Região Norte do Estado, e com o exame do fenótipo enzimático de alfa esterase, foi identificada a espécie *M. mayaguensis*.

Torres et al. (2007) suscitam uma importante questão ao assinalarem a presença de *M. mayaguensis* em mudas de goiabeira em viveiro comercial no município de Assu e em plantio comercial de pimentão cv. Comandante no município de Baraúna, Rio Grande do Norte. Como os nematóides são organismos pouco móveis no solo, são as atividades agrícolas as responsáveis pela disseminação dos mesmos, desde maquinário contaminado até a obtenção de mudas infestadas (SILVA, 2005). Devido a sua biologia e modo de dispersão, o controle preventivo é o mais indicado, pois as mudas infestadas no viveiro, em muitos casos, só manifestam os sintomas da doença quando já dispostas no campo, como reflexo das condições climáticas, principalmente temperatura, umidade e características físicas e químicas do solo (RITZINGER; COSTA, 2004).

Deve-se ressaltar, entretanto que, pelo resultado de estudos recentes, a espécie *M. mayaguensis* Rammah & Hirschmann que afeta de maneira significativa os pomares de goiabeira em diversas regiões do país, e a espécie *M. enterolobii* Yang & Eisenback tratam-se, possivelmente, de uma única espécie. Dados morfológicos de amostras de ambas, a similaridade da gama de hospedeiros, os fenótipos idênticos para as enzimas esterase e malato desidrogenase, além de seqüências de mtDNA idênticos, suportam esta idéia (XU et al.,2004). De acordo com Oliveira, Silva e

Parizzi (2009), organizações regionais de proteção fitossanitária das plantas, como por exemplo a EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) já estão considerando as duas espécies como uma única e, caso a hipótese se confirme, o nome *M. enterolobii* deve prevalecer por ter sido o primeiro descrito.

#### 2.4 A FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a* COMO INDICADORA DE ESTRESSE

As moléculas dos pigmentos fotossintéticos absorvem a energia luminosa e alteram suas configurações eletrônicas, temporariamente, saindo de um estado basal para um estado de maior excitação eletrônica (CAMPOSTRINI, 2001). A clorofila excitada é extremamente instável e pode retornar para o seu estado basal por meio de diferentes processos: a transferência de energia para outra molécula de pigmento por meio de ressonância; a emissão da fluorescência da clorofila *a*, que é a emissão de parte da radiação absorvida na região do visível (vermelho); a molécula pode ainda converter a energia na forma de calor ou pode ser encaminhada para a via fotoquímica, que é a efetiva utilização da luz nos processos fotoquímicos da fotossíntese, formando o poder redutor (NADPH) e o gradiente eletroquímico de  $H^+$  responsável pela síntese de ATP (CAMPOSTRINI, 2001; ENÉAS FILHO; MIRANDA; SILVEIRA, 2010) (Figura 1).

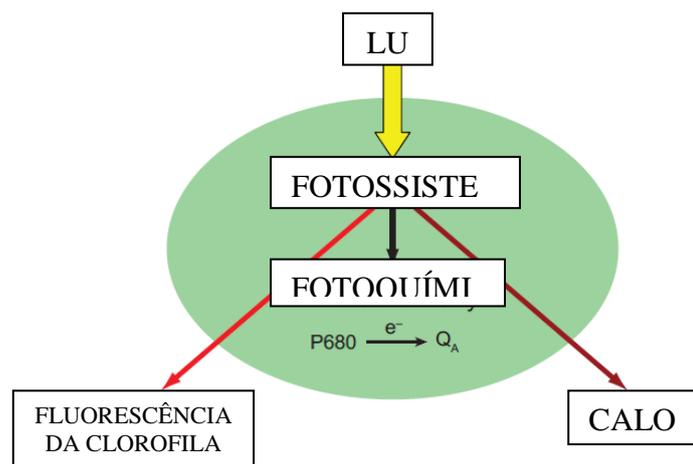


Figura 1 - Modelo das possíveis formas de dissipação da energia luminosa após absorção pelas moléculas de clorofilas associadas ao fotossistema II.

Fonte: Baker (2008) adaptado.

A fluorescência da clorofila a pode ser usada para estimar a eficiência fotoquímica do fotossistema II e seus parâmetros tem sido utilizados para examinar e inferir a respeito do desempenho fotossintético de plantas sob condições controladas e de campo (BAKER; ROSENQVIST, 2004; BAKER, 2008). Esta ferramenta tem sido muito utilizada no estudo da fotossíntese, pois é um método não-destrutivo e que permite uma análise qualitativa e quantitativa da absorção e aproveitamento da energia luminosa pelo aparelho fotossintético, permitindo analisar a capacidade fotossintética e estudar a ação de vários tipos de estresse sobre a mesma (KRAUSE; WEIS, 1991).

A deficiência de água é um fator limitante ao crescimento das plantas e ao seu pleno desenvolvimento. Isso se dá pela enorme gama de processos em que a presença de água é imprescindível, como, por exemplo, o processo fotossintético (BAKER; ROSENQVIST, 2004). Assim como a deficiência de água, outros tipos de estresse, como estresse salino ou por excesso de luminosidade, são capazes de provocar alterações significativas no processo fotoquímico da fotossíntese, seja pela falta de intermediários, necessários para dar sequência à cadeia de eventos, seja pela degradação ou desorganização do aparelho fotossintético. Bussotti, Strasser e Schaub (2007), avaliaram a resposta fotossintética de plantas lenhosas submetidas à condição de excesso de ozônio. Estes autores observaram que os sintomas desse estresse, como alterações nos cloroplastos, provocando a degradação de clorofilas e uma maior dissipação da energia absorvida sob a forma de calor, além do fechamento estomático, são mecanismos fisiológicos contra a ocorrência de um estresse oxidativo. A oxidação proteínas estruturais e componentes de membranas pode provocar danos ao aparelho fotossintético e um declínio na eficiência das folhas em produzir fotoassimilados.

Christen et al. (2007), por sua vez, avaliaram as respostas de plantas de videira ao estresse causado por uma doença de grande importância no cultivo dessa fruta, a Esca. Esta infecta, principalmente, o tecido lenhoso das videiras, e impede o transporte de água nas plantas pela obstrução dos vasos do xilema. Assim como muitas doenças causadas por fitopatógenos, somente projeta seus sintomas tardiamente em campo, tornando difícil o controle da mesma. No referido trabalho, entretanto, características da fluorescência transiente de plantas infectadas e sadias

foram comparadas e foi obtido sucesso na detecção de alterações no aparelho fotossintético, provocadas pela doença, dois meses antes do aparecimento dos sintomas. Estes resultados evidenciam que a fluorescência da clorofila *a* pode ser utilizada como método não destrutivo de rápida detecção desta doença e, possivelmente, de outros tipos de estresse, justificando as pesquisas com a utilização da técnica em outros patossistemas, a fim de se estabelecer protocolos adequados a sua utilização.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO

##### 3.1.1 Área experimental e material vegetal

O experimento foi instalado em casa de vegetação instalada na sede do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER), localizado no Centro Regional de Desenvolvimento Rural (CRDR) Nordeste, município de Linhares (19°23'48"S e 40°03'42"W), Espírito Santo e conduzido durante os meses de novembro de 2008 a maio de 2009 (Figura 2).



Figura 2 - Disposição das mudas clonais de goiabeira cv. Paluma em casa de vegetação.

Foram utilizadas mudas clonais de goiabeira cv. Paluma, originadas de estacas coletadas de matrizes sadias obtidas do Pólo de Produção de Goiaba do Espírito Santo, localizado no município de Pedro Canário, Região Norte do Estado. Estas estacas foram enraizadas diretamente em sacola de polietileno preto, com capacidade de 1 litro, contendo substrato comercial para fruteiras (70% de casca de *Pinus* e 30% de fibra de coco).

O enraizamento foi efetuado sob condições controlada de umidade (85%) e temperatura (24°C), com a utilização de irrigação em sistema de nebulização intermitente e exaustores, ambos controlados eletronicamente por sensores. Após atingirem cerca de 30 cm de altura, as mudas foram transferidas para vasos de 20L, contendo substrato composto de solo argiloso e areia (2:1) previamente autoclavado por 50 minutos a 1 atm.

### **3.1.2 Determinação dos tratamentos**

Foi utilizada no experimento uma população de *M. mayaguensis*, proveniente do município de Pedro Canário, comprovadamente patogênica à goiabeira. A pureza desta população foi confirmada por meio do perfil da isoenzima esterase (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001) e a extração de ovos e juvenis das raízes foi realizada segundo o método de Hussey e Barker (1973), modificado por Boneti e Ferraz (1981). A concentração de ovos e juvenis foi determinada em câmara de contagem de Peters, sendo a suspensão calibrada para 1000 ovos.mL<sup>-1</sup>. Tal calibração permitiu o controle na obtenção de quatro diferentes densidades de inóculo: controle (sem inóculo); T<sub>1</sub> (300 ovos.planta<sup>-1</sup>); T<sub>2</sub> (3.000 ovos.planta<sup>-1</sup>) e T<sub>3</sub> (30.000 ovos.planta<sup>-1</sup>).

Com o auxílio de uma pipeta, cada suspensão foi depositada em dez orifícios com aproximadamente 5 cm de profundidade ao redor da planta, de modo que se atingisse a quantidade de ovos por planta previamente determinada. A inoculação foi realizada na rizosfera da muda sete dias após o transplântio para os vasos.

### **3.1.3 Análises estatísticas**

Foi utilizado o delineamento experimental em blocos ao acaso, com 4 tratamentos e 5 repetições (blocos). Foi realizada a análise de variância dos dados e, quando verificadas diferenças significativas pelo teste F (5%), as médias foram comparadas pelo teste Tukey (p<0,05). As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa ASSISTAT 7.5b (SILVA, 2008).

## 3.2 EXPERIMENTO EM CAMPO

### 3.2.1 Área experimental e material vegetal

O experimento foi conduzido entre os meses de janeiro e abril de 2009 em um pomar comercial de goiabeiras cv. Paluma com 45 meses de idade, situado no distrito de Cristal do Norte, Município de Pedro Canário, Região Norte do Espírito Santo (18°01'49"S e 40°09'02"W). As plantas do pomar foram provenientes de mudas obtidas por meio da técnica de estaquia e foram plantadas no espaçamento de 6,5 x 4,0 m.

### 3.2.2 Determinação dos tratamentos

A área de estudo apresentava goiabeiras naturalmente infectadas por *Meloidogyne mayaguensis*, em diferentes estágios da doença, e plantas sadias. Foram utilizadas 15 plantas para a realização deste trabalho, sendo estas divididas em 3 grupos: plantas sadias (não parasitadas), as quais funcionaram como controle; plantas parasitadas e assintomáticas e plantas parasitadas e sintomáticas. Esta divisão levou em conta a presença ou ausência dos nematóides no sistema radicular das plantas e os sintomas típicos da doença (Figura 3).

### 3.2.3 Análises estatísticas

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se, 3 tratamentos e cinco repetições. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA) e quando significativas pelo teste F (5%), as médias foram comparadas pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ). A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa ASSISTAT 7.5b (SILVA, 2008). Os dados obtidos pelas análises da cinética da emissão da fluorescência da clorofila *a* foram submetidos à normalização em Log10, já que estas medidas não seguem uma distribuição normal ou Gaussiana (LAZÁR, 2006).



Figura 3 - Aspecto geral dos grupos analisados. (A) Aspecto visual das plantas sadias e plantas parasitadas e assintomáticas; (B) Aspecto visual das plantas parasitadas e sintomáticas; (C) Evolução dos sintomas da meloidoginose em folhas de goiabeira cv. 'Paluma' (Direita (plantas sadias) → esquerda (estágio avançado da doença)); (D) Aspecto visual de um ramo de goiabeira em estágio avançado da meloidoginose.

### 3.3 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS

#### 3.3.1 Análise da emissão da fluorescência da clorofila *a*

As medidas de fluorescência da clorofila *a* foram realizados no período entre 8 e 9 horas da manhã, utilizando-se folhas do terceiro ou quarto par, contadas a partir do ápice do ramo. As folhas utilizadas nessa medição foram previamente adaptadas ao escuro por um período de 30 minutos, a fim de permitir a completa oxidação do sistema fotossintético de transporte de elétrons.

Foi efetuada a medição da fluorescência da clorofila *a* em folhas jovens totalmente expandidas, utilizando-se um fluorímetro portátil Handy-PEA<sup>®</sup> (Handy-Plant

*Efficiency Analyser*, Hansatech Instruments, King's Lynn, Norfolk, UK). A fluorescência transiente foi induzida por 1s de iluminação, obtida por um arranjo de diodos emissores de luz, componentes do fluorímetro, os quais proveram uma intensidade máxima de luz de  $3.000\mu\text{mol f\acute{o}tons.m}^{-2}.s^{-1}$  sobre uma área foliar de 4mm de diâmetro. A cinética da fluorescência ( $F_0$  a  $F_M$ ) foi obtida no período de  $10\mu\text{s}$  a 1s, sendo que a fluorescência obtida aos  $50\mu\text{s}$  foi considerada a fluorescência inicial ( $F_0$ ) (STRASSER; STRASSER, 1995).

Os resultados das amostragens foram tabulados e trabalhados com auxílio do software PEA Plus (Versão 1.01), o qual extraiu as variáveis da fluorescência transiente: fluorescência inicial ( $F_0$ ), fluorescência máxima ( $F_M$ ), fluorescência variável ( $F_V$ ), além da eficiência fotoquímica máxima do FSII, dada pela razão  $F_V/F_M = \phi_{P_0}$  e do rendimento quântico efetivo do fotossistema II [ $F_V/F_0 = \phi_{P_0}/(1 - \phi_{P_0})$ ]. Foram também avaliados parâmetros que descrevem a resposta, a estrutura e funcionamento do FSII, por meio da análise de fluxos específicos de energia por centro de reação e pela avaliação dos rendimentos das reações fotoquímicas de transporte de elétrons por centro de reação ( $ET_0/RC$ ); probabilidade de um éxciton capturado pelo centro de reação se manter na cadeira transportadora de elétrons ( $ET_0/TR_0 = \Psi_0$ ); fluxo de energia dissipada por centro de reação ( $DI_0/RC$ ); quantidade de centros de reação ativos por sessão transversal da folha ( $RC/CS_0$ ); fluxo de energia capturada por centro de reação ( $TR_0/RC$ ); fluxo específico de absorção por centro de reação ( $ABS/RC$ ); densidade de centros de reação expressos com base na absorção ( $RC/ABS$ ); performance das reações de oxidação-redução na cadeia transportadora de elétrons [ $\Psi_0/(1 - \Psi_0)$ ] e o índice de desempenho ( $PI_{ABS}$  e  $PI_{TOTAL}$ ), sendo estes analisados segundo o teste O-J-I-P (STRASSER; STIRBET, 2001; FORCE; CRITCHLEY; VAN RENSEN, 2003).

### 3.3.2 Teores de pigmentos foliares

#### 3.3.2.1 Experimento em casa de vegetação

A estimativa da cor verde das plantas em casa de vegetação foi determinada utilizando-se de um clorofilômetro (Minolta<sup>®</sup>, Modelo SPAD-502). Todas as análises

foram realizadas nas mesmas folhas jovens e totalmente expandidas em que foram realizadas as medições da emissão de fluorescência da clorofila *a*.

### 3.3.2.2 Experimento em campo

Foram avaliados os teores de pigmentos fotossintetizantes (clorofilas *a* e *b* e carotenóides) adaptando-se metodologia de Santos et al. (2007), onde cinco discos de 4,5 mm de diâmetro foram retirados das mesmas folhas utilizadas na medição da fluorescência da clorofila *a* e depositados em tubos de ensaio, devidamente identificados, contendo 5 mL de dimetilsulfóxido (DMSO). Esses tubos foram mantidos no escuro durante 26 horas e os extratos foram lidos em espectrofotômetro (FEMTO<sup>®</sup>, modelo 700 plus) nos comprimentos de onda de 480, 645 e 663 nm. A determinação dos teores de clorofila *a* e *b* e carotenóides seguiu as equações propostas por Hendry e Price (1993), de modo a se obter os resultados finais expressos em  $\mu\text{mol.g}^{-1}\text{MS}$ , de acordo com as equações 1, 2 e 3:

$$\text{Clorofila } a = (12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}) \times \text{FC} \times V / (1000 \times \text{MS}) \quad (1)$$

$$\text{Clorofila } b = (22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}) \times \text{FC} \times V / (1000 \times \text{MS}) \quad (2)$$

$$\text{Carotenóides} = (A_{480} + (0,114 \times A_{663}) - (0,638 \times A_{645}) \times V \times 1000) / 112,5 \times \text{MS} \quad (3)$$

Onde:  $A_{480}$  = absorvância em 480 nm;  $A_{645}$  = absorvância em 645 nm;  $A_{663}$  = absorvância em 663 nm; FC = fator de conversão da amostra de  $\text{mg.L}^{-1}$  para  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  (clo *a* = 1,119 e clo *b* = 1,102); MS = massa seca dos discos foliares, obtida pela disposição do material em estufa com temperatura de 65°C, até atingir massa seca constante (g) e V = volume da amostra (mL)

### 3.3.3 Medidas de crescimento em casa de vegetação

Medidas de crescimento não-destrutivas como número de folhas, diâmetro do caule e altura da planta foram realizadas a cada dois meses, em casa de vegetação, a fim de estimar o crescimento das plantas jovens em relação à maior ou menor influência do patógeno. O diâmetro do caule e a altura da planta foram tomados a partir de

marcação feita próxima ao colo da planta no início do experimento, sendo as mensurações sempre efetuadas naquele ou a partir daquele local.

### 3.3.4 Estimativa da produção em campo

Para a determinação da influência do parasitismo do nematóide sobre a produção das plantas utilizadas no experimento de campo, no período da colheita foi feita a contagem do número de frutos formados em cada planta e foi calculado o peso médio de  $\frac{1}{3}$  do número de frutos de cada planta. A estimativa de produção, expressa em Kg/planta foi calculada pela equação 4:

$$\text{Produção (Kg.planta}^{-1}\text{)} = \text{Nf.planta}^{-1} \times \text{Mf.planta}^{-1} \quad (4)$$

Onde, Nf = número de frutos; Mf = massa média dos frutos (Kg)

### 3.3.5 Pós-colheita dos frutos

Com o objetivo de avaliar comparativamente a produção dos diferentes tratamentos, frutos de goiabeira 'Paluma' pertencentes aos diferentes tratamentos em campo (plantas sadias, plantas parasitadas sintomáticas e plantas parasitadas assintomáticas) foram colhidos em estágio "de vez", dispostos em caixas térmicas e levados imediatamente ao Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, em Vitória, onde foram lavados com água corrente e acondicionados em câmara fria a 8°C por 24 horas, até o início das análises. Os frutos foram então dispostos sobre a bancada do laboratório, separados de acordo com os tratamentos. Todas as análises foram realizadas a 20°C.

Durante um período de 8 dias, com amostragens a cada dois dias, foram retiradas amostras dos diferentes grupos para as seguintes análises:

- a) Teor de sólidos solúveis (SS): A polpa da goiaba foi separada das porções da casca e sementes e triturada em processador doméstico de alimentos. O material homogêneo resultante foi filtrado em tecido de náilon. O suco obtido

serviu para avaliação do teor de SS, utilizando-se para isto um refratômetro de mão (Instrutherm<sup>®</sup>, BR).

- b) Acidez titulável (AT): A polpa homogeneizada também foi utilizada para a determinação da acidez titulável. Uma alíquota (2ml) de suco foi titulada em solução 0,1N de NaOH, em presença de fenolftaleína, para um pH de 8,1. O valor obtido foi expresso em mg de ácido cítrico.100mL<sup>-1</sup> de suco (AOAC, 1992);
- c) SS/AT: Obtida pela razão entre os valores de SS e AT
- d) Perda de matéria fresca (PMF): Obtida pela diferença de massa entre uma determinada pesagem e a anterior, sendo expressa em porcentagem (equação 5). As determinações de massa foram realizadas em balança Semi Analítica Gehaka<sup>®</sup>, modelo BG-400.

Esse experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x5, sendo 3 tratamentos (frutos de plantas saudáveis e de plantas doentes sintomáticas e assintomáticas) e 5 pontos (dias) de análise, utilizando-se 5 repetições. As análises estatísticas dos dados foram realizadas utilizando-se a análise de variância (ANOVA) e a significância pelo teste F a 5%. Quando diferenças significativas foram detectadas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), utilizando-se o programa ASSISTAT 7.5b (SILVA, 2008).

#### **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos no presente trabalho são apresentados na forma de artigos científicos. Foram produzidos dois artigos, os quais serão enviados para periódicos pertinentes aos assuntos em questão.

#### 4.1 PRIMEIRO ARTIGO

### **Resposta fisiológica em mudas de goiabeira 'Paluma' parasitadas por *Meloidogyne mayaguensis* em casa de vegetação**

Wilka Messner da Silva Bispo<sup>(1)</sup>, Diolina Moura Silva<sup>(1)</sup>, Inorbert de Melo Lima<sup>(2)</sup>,  
José Aires Ventura<sup>(1)</sup> e Adelaide de Fátima Santana da Costa<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CCHN, UFES, Goiabeiras, Vitória – ES, CEP: 229075-910, Tel. (27) 4009-2588, e-mail: wilka.messner@gmail.com, diu@terra.com.br, adelaide@incaper.es.gov.br, ventura@incaper.es.gov.br; <sup>(2)</sup>Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER), Bento Ferreira, Vitória - ES, CEP.: 29052-010, Tel. (27) 3137-9888, e-mail: inorbert@incaper.es.gov.br

Resumo – O presente estudo teve como objetivo avaliar alterações de ordem fisiológica em goiabeiras cv. Paluma sob diferentes níveis de infestação pelo nematóide-das-galhas *Meloidogyne mayaguensis* Rammah e Hirschmann (Sin.: *M. enterolobii*), além de validar a técnica de medição da fluorescência da clorofila *a* como possível ferramenta para detecção precoce de plantas doentes. O experimento foi realizado com mudas plantadas em vasos, durante o período de novembro de 2008 a maio de 2009, em casa de vegetação, instalada no Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER), Linhares, Espírito Santo. Os tratamentos foram constituídos por quatro densidades de inóculo: T<sub>1</sub> (3 x 10<sup>2</sup> ovos.planta<sup>-1</sup>); T<sub>2</sub> (3 x 10<sup>3</sup> ovos.planta<sup>-1</sup>); T<sub>3</sub> (3 x 10<sup>4</sup> ovos.planta<sup>-1</sup>) e um controle (sem inóculo). Foram efetuadas medidas de crescimento; valores de SPAD, e a avaliação das respostas fotoquímicas. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos em relação à intensidade de cor verde fornecida pelo SPAD e às medidas de crescimento das plantas, o que corrobora a idéia que a manifestação dos sintomas da meloidoginose só aparece tardiamente em campo. As respostas fotoquímicas das plantas parasitadas também não mostraram diferenças significativas entre os diferentes níveis de inóculo e as plantas sadias, indicando que, nas condições do presente estudo, a técnica parece não ser sensível à detecção da doença.

Termos para indexação: *Psidium guajava*, fluorescência da clorofila a, nematóides-galhas, *Meloidogyne enterolobii*.

**Physiological changes in guava 'Paluma' infested by *Meloidogyne mayaguensis* in greenhouse**

Abstract – This study aimed to evaluate physiological changes in guava 'Paluma' under different infection levels by the root-knot nematode *Meloidogyne mayaguensis* Rammah e Hirschmann (Syn.: *M. enterolobii*), and validate the chlorophyll fluorescence technique as a possible tool for early detection of the root-knot nematode. The experiment was conducted using young plants in vases, from November, 2008 to May, 2009 and the plants were grown in a greenhouse, installed in the regional research center of the Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER), Linhares, Espírito Santo. The treatments consisted in four inoculum densities: T<sub>1</sub> (3 x 10<sup>2</sup> eggs.plant<sup>-1</sup>); T<sub>2</sub> (3 x 10<sup>3</sup> eggs.plant<sup>-1</sup>); T<sub>3</sub> (3 x 10<sup>4</sup> eggs.plant<sup>-1</sup>) and control (without an inoculum). Growth measures were done, as well as the SPAD readings and the evaluation of the photochemical responses. The photochemical responses of the infested plants showed no significant differences among the different levels of inoculum and the healthy plants, indicating that, in this study, the technique does not appear to be sensitive in detecting the disease. There were also no significant differences between treatments in relation to the green color estimative, obtained by the SPAD readings and measures of plant growth, which supports the idea that the visual manifestation of the meloidoginose symptoms only appear late in the field. The photochemical responses of the parasitized plants showed no significant differences between the different levels of inoculum and the healthy plants, indicating that in the conditions of this study, the technique appears to be low sensitive to detecting the disease.

Index terms: *Psidium guajava*, chlorophyll a fluorescence, root-knot nematodes, *Meloidogyne enterolobii*.

## Introdução

O Estado do Espírito Santo apresenta regiões com condições edafoclimáticas muito diversificadas, o que possibilita o cultivo comercial de várias espécies de fruteiras (NEVES, 2006). Dentre as potencialmente cultiváveis está a goiabeira (*Psidium guajava* L.), cuja cultura tem se mostrado uma atividade de alta rentabilidade e de grande possibilidade de expansão (GOMES, 2007).

No entanto, nas regiões produtoras da fruta no Estado existem limitações de natureza fitossanitária, capazes de afetar o desenvolvimento e a produtividade das plantas. Os nematóides do gênero *Meloidogyne* Goeldi, mais conhecidos como nematóides-das-galhas recebem destaque. São fitopatógenos capazes de provocar a desorganização dos tecidos radiculares da planta hospedeira e provocar o intumescimento dos tecidos da raiz, dando origem às galhas (BARBOSA, 2003). Estas modificações anatômicas resultam em alterações fisiológicas, as quais culminam com a redução da absorção de nutrientes e água, essenciais para os processos fisiológicos, como a fotossíntese (HUSSEY, 1985, ZIMMERMAN; Mc DONOUGH, 1978).

Os nematóides têm movimentação limitada no solo e as atividades agrícolas consistem nos principais meios de sua disseminação. A movimentação de máquinas agrícolas nas propriedades sem que haja pré-limpeza de sua estrutura é um exemplo, pois estas são passíveis de carrear-los aderidos à partículas de solo de uma região a outra. Além do maquinário, uma relevante forma de disseminação da doença é a utilização de mudas infestadas, o que torna essencial a ciência da procedência das mesmas antes que o plantio seja efetuado (SILVA, 2005). As mudas infectadas, muitas vezes só iniciam a manifestação dos sintomas da presença dos nematóides-das-galhas tardiamente quando já dispostas no campo, dificultando o reconhecimento da doença nas mudas ainda nos viveiros (SANTOS; CARVALHO; SILVA, 2006). Deste modo, devido à biologia e ao modo de dispersão deste patógeno, torna-se necessária a busca pelo reconhecimento de possíveis alterações fisiológicas das plantas ainda em casa de vegetação, além de validar métodos que favoreçam a detecção da doença antes da implantação dos pomares.

A fluorescência da clorofila *a* é uma ferramenta não-destrutiva que permite a análise qualitativa e quantitativa da absorção e aproveitamento da energia luminosa pelo fotossistema II, permitindo avaliar a capacidade fotossintética das plantas analisadas. A técnica permite avaliar o efeito de vários tipos de estresses sobre o aparelho fotossintético (KRAUSE; WEIS, 1991), os quais podem resultar em redução no crescimento, provocado por uma menor fixação de carbono pela planta. Assim, o objetivo do presente trabalho foi o de avaliar alterações fisiológicas em goiabeiras cv. Paluma sob diferentes níveis de infestação pelo nematóide-das-galhas *Meloidogyne mayaguensis*, além de tentar validar a técnica de medição da fluorescência da clorofila *a* como possível ferramenta para detecção precoce da doença em mudas.

## **Material e métodos**

### *Obtenção das mudas e área experimental*

Mudas clonais de goiabeira cv. Paluma, obtidas de estacas coletadas de matrizes sadias, foram enraizadas em sacolas de polietileno preto com capacidade de 1 L, contendo substrato comercial para fruteiras, composto de 70% de casca de *Pinus* e 30% de fibra de coco. Foram mantidas sob condições controladas de umidade (85%) e temperatura (24°C), por meio de sistema de nebulização intermitente e exaustores. Após atingirem cerca de 30 cm de altura, as mudas foram transferidas para vasos de 20 L, contendo substrato composto de solo argiloso e areia (2:1), sendo este previamente autoclavado por 50 minutos a 1 atm. Cada vaso recebeu apenas uma muda.

O experimento foi conduzido de novembro de 2008 a maio de 2009, em casa de vegetação, no Centro Regional de Desenvolvimento Rural Nordeste do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER – CRDR Nordeste), no município de Linhares (19°23'48"S e 40°03'42"W), Região Norte do Estado do Espírito Santo.

### *Extração dos ovos de nematóides e inoculação das mudas*

Os ovos de *Meloidogyne mayaguensis* foram extraídos de raízes de goiabeiras comprovadamente infectadas, provenientes de um pomar comercial localizado em Cristal do Norte, distrito de Pedro Canário, Região Norte do Espírito Santo. A extração foi realizada segundo o método de Hussey e Barker (1973), modificado por Boneti e Ferraz (1981), e a pureza da população de *M. mayaguensis* amostrada foi confirmada através do perfil da isoenzima esterase, segundo Carneiro e Almeida (2001).

A concentração de ovos foi determinada em câmara de contagem de Peters e a suspensão calibrada para  $1000 \text{ ovos.mL}^{-1}$ , a partir da qual foram preparadas quatro densidades de inóculo, os quais constituíram os tratamentos: Controle (sem inóculo);  $T_1$  -  $300 \text{ ovos.planta}^{-1}$ ;  $T_2$  -  $3.000 \text{ ovos.planta}^{-1}$  e  $T_3$  -  $30.000 \text{ ovos.planta}^{-1}$ . Com o auxílio de pipeta foi efetuada a inoculação da suspensão de ovos em dez orifícios com cerca de 5 cm de profundidade, arranjados no substrato ao redor das plantas. A inoculação foi realizada sete dias após o transplântio das mudas para vasos (20L) e as medidas iniciadas 30 dias após a aplicação.

### *Medidas de crescimento*

Medidas não-destrutivas de crescimento foram realizadas a cada dois meses a fim de verificar alterações na estrutura das plantas amostradas. Foram avaliados o número de folhas, o diâmetro do caule e a altura das plantas. O diâmetro do caule e a altura da planta foram tomados a partir de marcação feita próxima ao colo da planta no início do experimento, sendo as mensurações sempre efetuadas naquele ou a partir daquele local.

### *Leituras SPAD (Intensidade da cor verde)*

A intensidade da cor verde foi obtidos por meio da utilização de um clorofilômetro (Minolta®), modelo SPAD-502 a fim de não alterar a estrutura normal da planta pela

remoção de folhas. Estas medidas foram realizadas nas mesmas folhas utilizadas na medição da fluorescência da clorofila *a*.

#### *Fluorescência da clorofila a*

Para a medição da emissão da fluorescência da clorofila *a*, em folhas jovens totalmente expandidas, utilizou-se um fluorímetro portátil Handy-PEA<sup>®</sup> (Hansatech, UK) e os resultados foram tabulados e trabalhados com auxílio do software PEA Plus (versão 1.01) e Biolyzer (MALDONADO-RODRÍGUEZ, 2000), de onde foram calculados os parâmetros: RC/ ABS;  $\phi_{P_0}/(1 - \phi_{P_0})$ ;  $\psi_0/(1 - \psi_0)$ ;  $\delta_0/(1 - \delta_0)$ , e o  $PI_{TOTAL}$ . Todas as medidas foram realizadas no período entre 8 e 9 horas da manhã, utilizando-se folhas do terceiro ou quarto par de folhas, contadas a partir do ápice do ramo.

#### *Delineamento experimental*

O experimento foi instalado em delineamento experimental em blocos ao acaso, utilizando-se quatro tratamentos e 5 repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a significância pelo teste F (5%), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa ASSISTAT 7.5b (SILVA, 2008).

### **Resultados e discussão**

Não foram observadas diferenças significativas entre as plantas inoculadas e as plantas sadias em relação às características de crescimento, determinadas pela altura das plantas, número de folhas e diâmetro do caule (Figura 1). Estudos como o de Tihohod (1993) e o de Santos et al. (2006), levantam a questão de que mudas infestadas são um dos principais meios de se promover a dispersão dos fitonematóides, devido a ausência de sintomas da doença ainda em condição de casa de vegetação ou viveiros comerciais, sendo estes manifestados tardiamente

quando as mudas já estão instaladas em campo. Os resultados obtidos no presente trabalho corroboraram esta idéia, tendo as plantas parasitadas e mantidas em casa de vegetação, não apresentado variações visuais significativas em relação às plantas controle, mesmo quando se refere ao tratamento que recebeu a maior dose de inóculo ( $3 \times 10^4$  ovos.planta<sup>-1</sup>)

Os teores relativos de clorofila também não apresentaram diferenças significativas quando avaliados em relação ao tempo do experimento e nem mesmo quando os tratamentos foram avaliados entre si (Tabela 1). Resposta semelhante foi observada em trabalho de Asmus e Ferraz (2001), no qual avaliaram a relação entre a densidade populacional de *M. javanica* e a área foliar de plantas de soja e mostraram que a alteração na coloração das plantas parasitadas é restrita.

A técnica de medição da fluorescência da clorofila *a* permite a detecção de alterações na vitalidade das plantas, sendo estas decorrentes de alterações no processo fotossintético (STRASSER; STRASSER, 1995). Entretanto, os resultados referentes à vitalidade das amostras ( $PI_{TOTAL}$ ) não mostraram nenhuma diferença consistente entre os tratamentos avaliados, com exceção dos valores encontrados no segundo mês de análise (Figura 2). O  $PI_{TOTAL}$  é um parâmetro que pode ser definido como o produto de quatro outros:  $RC/ABS$ , que descreve a densidade de centro de reação do FSII ativos (Figura 2A);  $\phi_{P_0}/(1 - \phi_{P_0})$ , referente à performance das reações luminosas (Figura 2B);  $\psi_0/(1 - \psi_0)$ , que descreve a performance das reações de oxi-redução no escuro (Figura 2C) e  $\delta_0/(1 - \delta_0)$ , representativo da eficiência com que um elétron pode mover-se do acceptor de elétron reduzido do intersistema para o acceptor final do fotossistema I (FSI) (Figura 2D). Assim, o alto valor para  $\delta_0/(1 - \delta_0)$  encontrado em  $T_3$  (Figura 2D) provavelmente provocou a elevação de seu  $PI_{TOTAL}$  (Figura 2E) no mês de dezembro. Essa alta eficiência na ocorrência das reações fotoquímicas, observada em  $T_3$ , talvez possa ser considerada como uma tentativa da planta de superar a presença dos nematóides, assim como observado por Swain e Prasad (1989), já que  $T_3$  é o tratamento composto pelas plantas que receberam maior densidade de inóculo.

Também foram analisadas as constantes de dissipação de energia  $Kn$  e  $Kp$ , as quais indicam, respectivamente, a de-excitação não-fotoquímica e fotoquímica da energia

luminosa absorvida (Figura 3). Segundo Bussoti et al. (2007), esses parâmetros descrevem a eficiência da clorofila em controlar os processos de dissipação da energia em termos de fluorescência, calor, ou conservação da energia no transporte de elétrons. O aumento em  $K_n$  sugere redução na eficiência fotoquímica, ao passo que sua redução indica um incremento. Não foram observadas para essas constantes, entretanto, diferenças significativas entre as plantas pertencentes aos diferentes tratamentos, o que indica uma eficiência similar na utilização da energia luminosa recebida para o processo fotoquímico.

As análises realizadas nas plantas não representaram, até então, o estado fitossanitário em que as mesmas se encontravam. Ao final do experimento, após o desplântio, pode-se observar que o sistema radicular foi comprometido pelos diferentes tratamentos (Figura 4). A presença de um maior volume de raízes nas plantas controle foi significativa, principalmente de raízes de pequeno diâmetro, mais ativas e aptas à absorção. Essas características, entretanto, não foram observadas nas amostras referentes às plantas parasitadas. Nestas plantas, as raízes mostraram volume reduzido, além de apresentarem intumescimentos (galhas), provocados pela hipertrofia das células.

Christen et al. (2007) sugere que a técnica de medição da fluorescência da clorofila  $a$  pode ser um método sensível para caracterizar, quantificar e detectar estresses em plantas, antes mesmo que os sintomas visuais apareçam, como foi relatado em seus estudos com Esca em videiras. Nas condições do presente estudo, entretanto, a técnica utilizada parece não ter sido sensível a detecção.

Existem vários trabalhos que tratam dos efeitos de nematóides em plantas, entretanto, poucos referem-se aos estudos das alterações fisiológicas em goiabeiras. Deste modo, estudos que envolvam o acompanhamento de plantas infectadas desde o plantio até a colheita, associados ao acompanhamento do desenvolvimento da infecção, podem fornecer maiores subsídios para o manejo dos nematóides e condução da cultura.

## Conclusões

1. Nas condições de realização do experimento, as goiabeiras cv. Paluma infestadas pelo nematóide *M. mayaguensis* não apresentaram alterações visuais significativas na parte aérea quando comparadas às sadias, indicando que medidas de crescimento não funcionam como parâmetros adequados na caracterização e detecção de mudas infestadas.
2. Nas condições de realização do experimento, a fluorescência da clorofila *a* não foi sensível à detecção precoce da infestação do nematóide-das-galhas da goiabeira, mesmo com elevado parasitismo das raízes.

## Agradecimentos

Ao Ministério da Ciência e Tecnologia, à Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior, à Fundação de amparo à pesquisa do Espírito Santo, ao Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural e ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo pelo financiamento e apoio operacional durante a realização deste estudo.

## Referências

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

BARBOSA, D. H. S. G. **Levantamento dos nematóides de galha (*Meloidogyne* spp.) em áreas cafeeiras fluminenses e estimativa dos seus danos à produtividade regional**. 2003. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2003.

BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, n.3, p.553, 1981.

BUSSOTI, F.; STRASSER, R. J.; SCHAUB, M. Photosynthetic behavior of woody species under high ozone exposure probed with the JIP-test: A review. **Environmental Pollution**, Amherst, v. 147, p. 430-437, 2007.

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

CHRISTEN, D.; SCHÖNMANN, S.; JERMINI, M.; STRASSER, R. J.; DÉFAGO, G. Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress responses to Esca disease by in situ chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. **Environmental and Experimental Botany**, Netherlands, v. 60, p. 504-514, 2007.

GOMES, V. M. **Meloidoginose da goiabeira**: estudos sobre a sua patogênese e formas de convívio com a doença a campo. 2007. Dissertação (Mestrado em Produção vegetal) – Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacaze, 2003.

HUSSEY, R. S. Host-parasite relationships and associated physiological changes. In: SASSER, J.N.; CARTER, C.C. (Eds.). **An advanced treatise on Meloidogyne: biology and control**. Raleigh: North Carolina State University, 1985. p.143-153.

KRAUSE, G.H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. Annual Review Plant Physiology. **Plant Molecular Biology**, Netherlands, v.42, p.313-349, 1991.

MALDONADO-RODRÍGUEZ, R. **Biolzyer**: program developed in the Bioenergetics Laboratory of Geneva and available as free ware. 3.0. Geneva: Fluoromatics, 2000.

NEVES, A. W. **Estado investe para ampliar área de fruticultura**, 2006. Disponível em: <<http://www.es.gov.br/site/noticias/show.aspx?noticiald=99656959>>. Acesso em: 10 de junho de 2009.

SANTOS, C. D. G.; CARVALHO, S. L. F. de; SILVA, M. C. L. da. Solarização do solo em sacos plásticos para o controle dos nematóides das galhas, *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v.37, n.3, p. 350-356, 2006.

SILVA, F. A. S. **Assistat**: assistência estatística. 7.5. Campina Grande: UFCG, 2008.

SILVA, R. A. da. Técnicas para evitar a dispersão dos nematóides no cerrado. In: V CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 2005, Salvador. **Anais...** Salvador: EMBRAPA, 2005, p. 1-5.

STRASSER, B. J.; STRASSER, R.J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP-test. In: MATHIS, P. (ed) **Photosynthesis: from Light to Biosphere**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1995. p. 977-980.

SWAIN, R.; PRASAD, J. S. Photosynthetic rate in rice as influenced by the root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola*, infection. **Revue Nématologie**, França, v. 12, n. 4, p. 431- 432, 1989.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. 372p.

ZIMMERMAN, M. H.; McDONOUGH, J. Dysfunction in the flow of food. In: Horsfall, J.G.; Cowling, E.B. (Eds.). **Plant Disease: an advanced treatise**, New York: Academic Press, 1978. v.3, p.117-140.

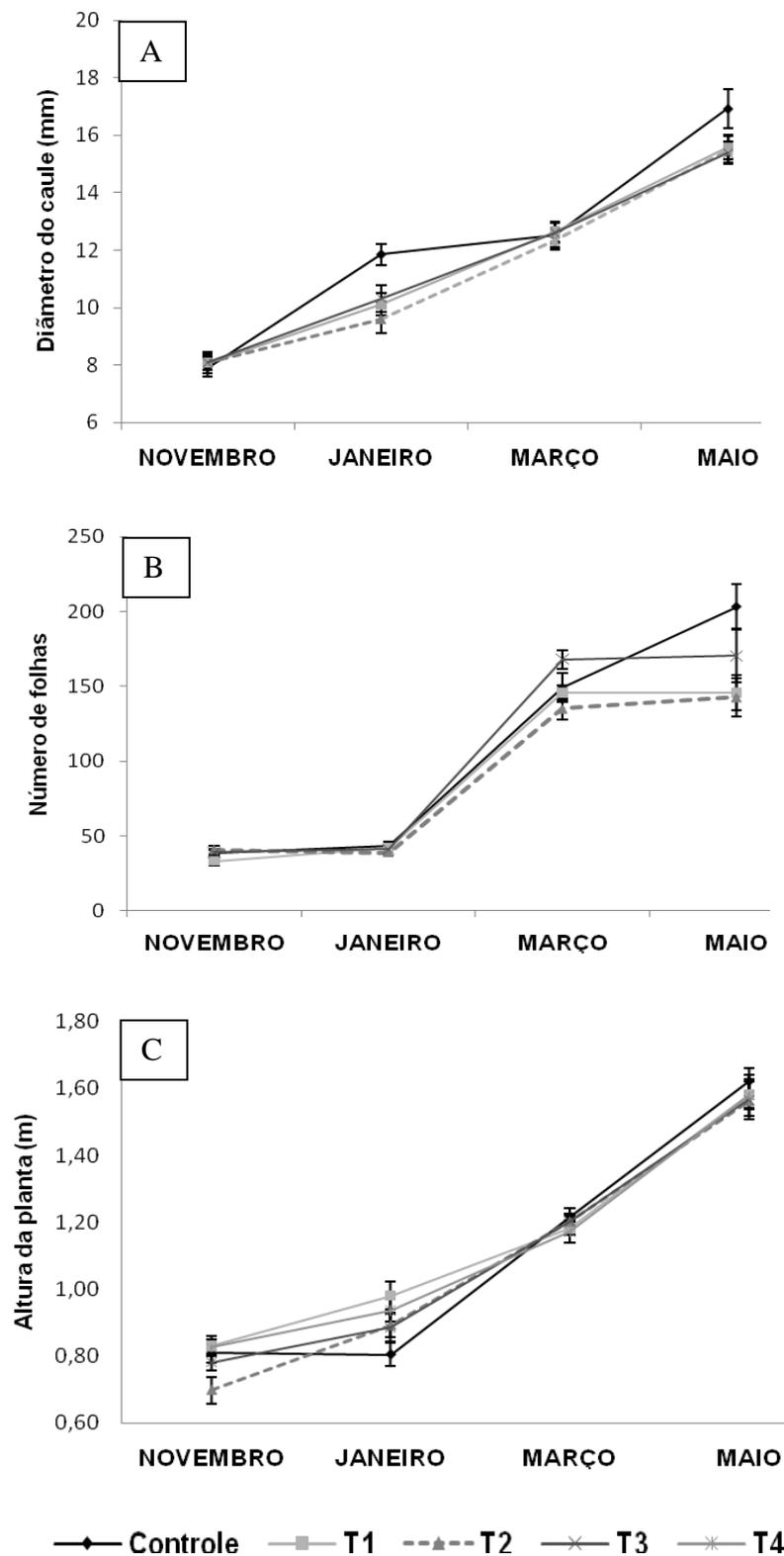
## Tabelas e figuras

**Tabela 1** - Estimativa da cor verde em plantas jovens de goiabeira cv. Paluma em casa de vegetação.

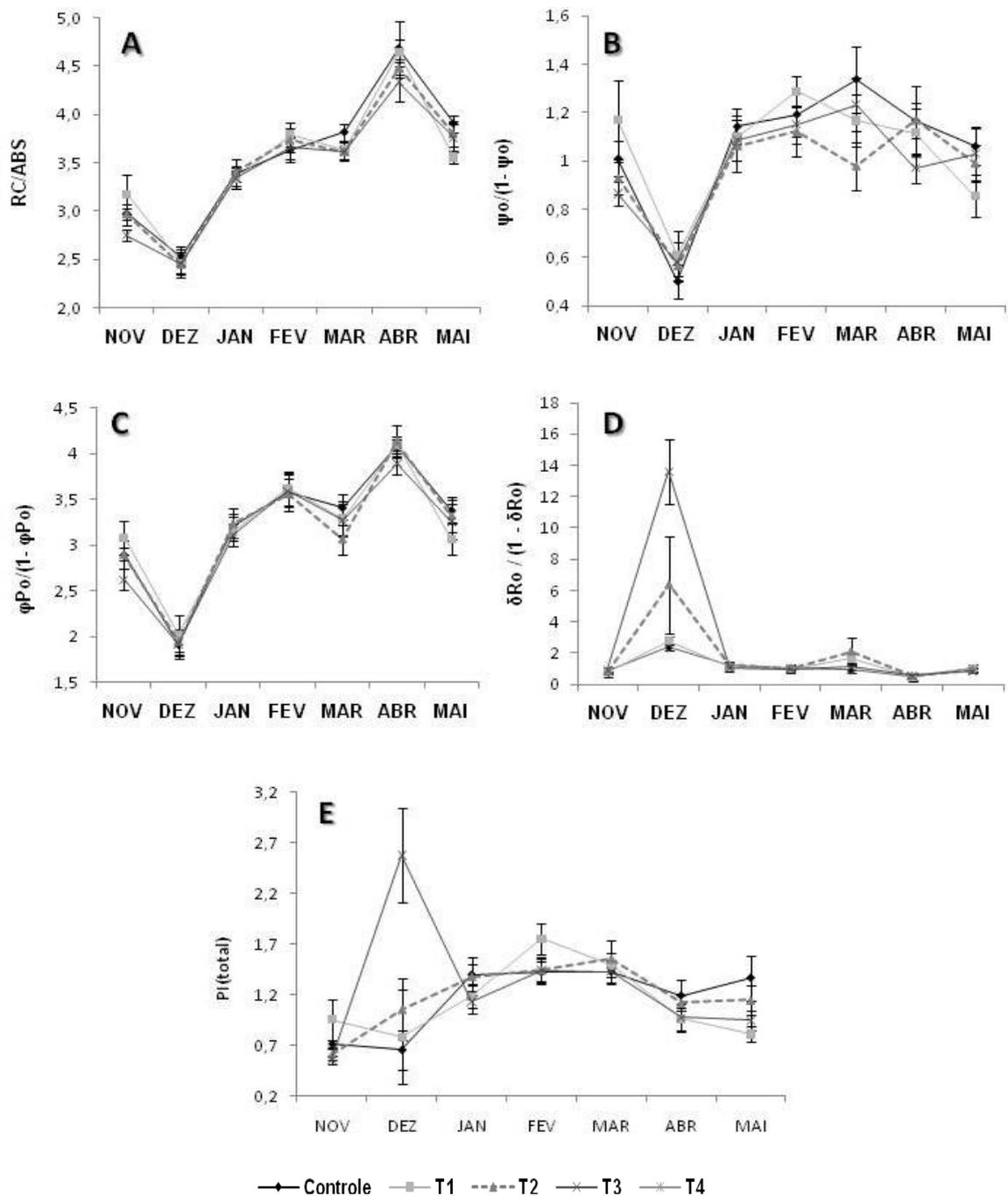
Tratamentos <sup>1</sup>	Leitura SPAD						
	Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio
Controle	25,8aA <sup>1</sup>	23,59aA	36,10aA	37,75aA	43,64aA	39,49aA	36,73aA
T <sub>1</sub>	28,87aA	21,25aA	33,27aA	40,17aA	40,23aA	35,74aA	37,10aA
T <sub>2</sub>	24,89aA	23,72aA	34,66aA	39,34aA	41,12aA	36,96aA	37,06aA
T <sub>3</sub>	25,57aA	21,99aA	33,17aA	37,89AA	40,29aA	35,21aA	38,01aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

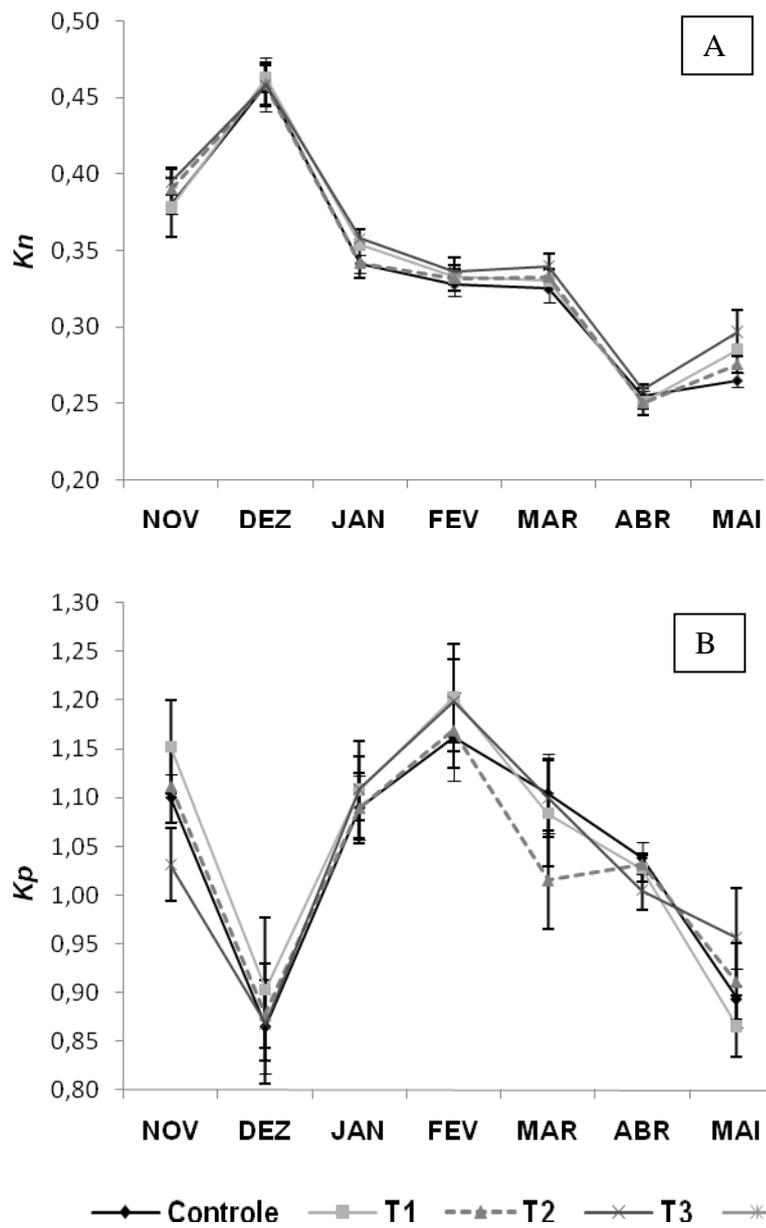
<sup>1</sup>Controle – sem inóculo; T<sub>1</sub> - 300 ovos.planta<sup>-1</sup>; T<sub>2</sub> – 3.000 ovos.planta<sup>-1</sup> e T<sub>3</sub>- 30.000 ovos.planta<sup>-1</sup>.



**Figura 1** - Medidas referentes ao crescimento de plantas jovens de goiabeira cv. Paluma em casa de vegetação. (A) Diâmetro do caule; (B) Número de folhas; (C) Altura da planta.  $T_1$  - 300 ovos.planta<sup>-1</sup>;  $T_2$  - 3.000 ovos.planta<sup>-1</sup>;  $T_3$ - 30.000 ovos.planta<sup>-1</sup>. As barras verticais indicam erro padrão.



**Figura 2** - Parâmetros componentes do  $PI_{TOTAL}$ . (A) RC/ABS: descreve a densidade de centro de reação do FSII ativos; (B)  $\varphi_{P_0}/(1 - \varphi_{P_0})$ : descreve a performance das reações luminosas; (C)  $\psi_o/(1 - \psi_o)$ : descreve a performance das reações de Ox-Red no escuro; (D)  $\delta_o/(1 - \delta_o)$ : descreve a performance das reações de Ox-Red do intersistema até a porção doadora de elétrons do FSI; (E)  $PI_{(total)}$ : descreve a vitalidade da planta.  $T_1 - 3 \times 10^2$  ovos.planta<sup>-1</sup>,  $T_2 - 3 \times 10^3$  ovos.planta<sup>-1</sup> e  $T_3 - 3 \times 10^4$  ovos.planta<sup>-1</sup>. Barras verticais indicam erro padrão.



**Figura 3** - Comportamento ao longo do experimento das constantes de dissipação (A) não-fotoquímica ( $K_n$ ) e (B) fotoquímica ( $K_p$ ) de energia, sendo  $T_1 - 3 \times 10^2$  ovos.planta<sup>-1</sup>,  $T_2 - 3 \times 10^3$  ovos.planta<sup>-1</sup> e  $T_3 - 3 \times 10^4$  ovos.planta<sup>-1</sup>. Barras verticais indicam erro padrão.



**Figura 4** - Desenvolvimento do sistema radicular de goiabeiras cv. Paluma inoculadas com suspensão de ovos de *M. mayaguensis* (Sin.: *M. enterolobii*) (A) Planta sadia; (B) Plantas inoculadas com  $3 \times 10^2$  ovos.planta<sup>-1</sup>; (C) Plantas inoculadas com  $3 \times 10^3$  ovos.planta<sup>-1</sup>; (D) Plantas inoculadas com  $3 \times 10^4$  ovos.planta<sup>-1</sup>.

## 4.2 SEGUNDO ARTIGO

### **Eficiência fotoquímica e produção de goiabeiras cv. Paluma parasitadas por *Meloidogyne mayaguensis***

Wilka Messner da Silva Bispo<sup>(1)</sup>, Diolina Moura Silva<sup>(1)</sup>, Inorbert de Melo Lima<sup>(2)</sup>, Antelmo Ralph Falqueto<sup>(1)</sup>, José Aires Ventura<sup>(1)</sup> e Adelaide de Fátima Santana da Costa<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CCHN, UFES, Goiabeiras, Vitória – ES, CEP: 229075-910, Tel. (27) 4009-2588, e-mail: wilka.messner@gmail.com, diu@terra.com.br, adelaide@incaper.es.gov.br, ventura@incaper.es.gov.br; <sup>(2)</sup>Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER), Bento Ferreira, Vitória - ES, CEP.: 29052-010, Tel. (27) 3137-9888, e-mail: inorbert@incaper.es.gov.br

Resumo – O presente estudo teve como objetivo caracterizar os efeitos do parasitismo do nematóide das galhas *Meloidogyne mayaguensis* (Sin.: *M. enterolobii*) sobre características fisiológicas e sobre a produção de goiabeiras cv. Paluma. O experimento foi realizado durante o período de janeiro a maio de 2009, em um pomar comercial de goiabeiras localizado no município de Pedro Canário, Norte do Espírito Santo. Foram realizadas medidas de emissão da fluorescência da clorofila a e teor de pigmentos foliares nos períodos anterior e posterior à colheita dos frutos, além de análises de pós-colheita e estimativa da produção. Três grupos, compostos por cinco plantas, foram identificados como: plantas saudas (controle), plantas parasitadas e assintomáticas e plantas parasitadas e sintomáticas. As plantas parasitadas apresentaram menor eficiência fotoquímica em comparação às plantas saudas, em ambos os períodos de análise, sendo que os menores valores foram encontrados para as plantas parasitadas e sintomáticas. Os teores de pigmentos foliares encontrados apresentaram tendência semelhante à encontrada nas respostas fotoquímicas, tendo as plantas saudas apresentado os maiores valores, sendo seguidas pelas infectadas assintomáticas e sintomáticas. Observou-se também que as plantas saudas apresentaram frutos de maior calibre que as plantas parasitadas, obtendo valores médios de 7,5 cm e 6,5 cm para diâmetro

longitudinal e equatorial, respectivamente, enquanto as plantas parasitadas e assintomáticas apresentaram valores médios de 6,7 cm e 6,1 cm, e as plantas sintomáticas valores médios de 5,6 cm e 5,5 cm. As plantas sadias mostraram-se, ainda, duas vezes mais produtivas que as plantas assintomáticas e 6 vezes mais produtivas que as plantas sintomáticas.

Termos para indexação: *Psidium guajava*, fluorescência da clorofila a, nematóides-galhas, *M. enterolobii*.

### **Photochemical efficiency and production of guava cv. Paluma parasitized by *Meloidogyne mayaguensis***

Abstract - This study aimed to characterize the effects of the root-knot nematode *Meloidogyne mayaguensis* (Syn.: *M. enterolobii*) parasitism on the physiology and production of guava cv. Paluma. The experiment was conducted during the period of January to May, 2009 in an orchard of guava in the municipality of Pedro Canário, North of Espírito Santo State. Measurements of chlorophyll a fluorescence emission and foliar pigment contents were done before and after the harvest period. Post-harvest analysis of the fruits and the estimative of production were also done. Three visual groups, consisting of five plants, were identified as: healthy plants (control), parasitized and asymptomatic plants and parasitized and symptomatic plants. In general, the infected plants showed lower photochemical efficiency in comparison to healthy plants, in both periods, and the lowest values were found for the symptomatic ones. The content of foliar pigments showed a similar tendency to that found in photochemical responses. The healthy plants presented the highest values being followed by the asymptomatic and symptomatic ones. It was also observed that the healthy plants presented fruits of larger size than the infested plants, obtaining average values of 7.5 cm and 6.5 cm in longitudinal and equatorial diameter, respectively, while asymptomatic plants showed average values of 6, 7 cm and 6.1 cm, and symptomatic plants values of 5.6 cm and 5.5 cm. The healthy plants were shown to be also two times more productive than the asymptomatic and 6 times more productive than the symptomatic plants.

Index terms: *Psidium guajava*, chlorophyll a fluorescence, root-knot nematodes, *M. enterolobii*.

## Introdução

Em 2003 foi criado, no município de Pedro Canário, região norte do estado do Espírito Santo, o Pólo de Produção de Goiaba para Indústria. Cerca de 120 mil mudas da goiabeira cv. Paluma foram plantadas em uma área de 300 ha, com a meta de alcançar produção em torno de 10,5 mil toneladas anuais (SERRANO et al., 2007).

A exploração comercial da goiabeira tem enfrentado, entretanto, problemas em algumas regiões devido à presença de doenças, responsáveis por grandes perdas na produtividade e qualidade dos frutos (VENTURA; COSTA, 2003). Dentre os principais problemas fitossanitários do Pólo, destaca-se o nematóide-das-galhas *Meloidogyne mayaguensis* (Sin.: *M. enterolobii*), o qual foi relatado na região por Lima et al. (2007). Estes nematóides, ao penetrarem nas raízes das plantas, produzem substâncias que provocam a hipertrofia e hiperplasia do córtex da raiz, que resulta em uma queda na eficiência da planta em absorver água e nutrientes (BARBOSA, 2003). Processos fisiológicos como a fotossíntese podem, então, ser afetados, comprometendo a fixação de CO<sub>2</sub> e a produção de biomassa, como pode ser observado em trabalho de Abrão e Mazzafera (2001).

A massa seca produzida pelas plantas é o resultado da fixação do CO<sub>2</sub> atmosférico por meio do processo fotossintético, e a distribuição dessa entre os órgãos de uma planta é o resultado de um conjunto de processos metabólicos e de transporte, que governam o fluxo de fotoassimilados por meio do sistema fonte-dreno (DUARTE et al., 2008). Observa-se que energia e nutrientes orgânicos são requeridos na manutenção do crescimento e na produção de ovos dos nematóides. Deste modo, supõe-se que exista algum grau de competição por fotoassimilados entre o hospedeiro e o parasita (CARNEIRO et al., 1999).

A análise das variáveis da emissão de fluorescência da clorofila a permite avaliar qualitativa e quantitativamente a absorção e o aproveitamento da energia luminosa pelo fotossistema II, permitindo avaliar a capacidade de produção de fotoassimilados pelas plantas, assim como do efeito de vários tipos de estresses sobre o aparelho fotossintético (BAKER; ROSENQVIST, 2004). Deste modo, este trabalho teve como

objetivo avaliar o efeito do parasitismo do nematóide-das-galhas *Meloidogyne mayaguensis* sobre a eficiência fotoquímica e, conseqüentemente, sobre a produção e qualidade dos frutos de goiabeira cv. Paluma em condição de campo.

## Material e métodos

### *Área experimental e definição dos tratamentos*

O experimento foi conduzido nos meses de janeiro a abril de 2009 em um pomar comercial de goiabeiras cv. Paluma com 45 meses de idade, situado no distrito de Cristal do Norte, município de Pedro Canário, Espírito Santo. As plantas utilizadas foram provenientes de mudas obtidas por meio da técnica de estaquia e plantadas no espaçamento de 6,5 x 4,0 m.

A área estudada apresentava plantas sadias e plantas naturalmente infectadas por *Meloidogyne mayaguensis*, em diferentes estádios de evolução da doença. Foram utilizadas 15 plantas para a realização deste trabalho, sendo estas divididas em 3 grupos: plantas sadias, as quais funcionaram como controle; plantas parasitadas e assintomáticas e plantas parasitadas e sintomáticas. Esta divisão levou em conta a presença ou ausência dos sintomas típicos da doença como clorose generalizada, bronzeamento das bordas das folhas, desfolhamento e perda de vigor da copa e a análise nematológica de porções da raiz e rizosfera.

### *Fluorescência da clorofila a*

Foi efetuada a medição da emissão fluorescência da clorofila a, em folhas jovens totalmente expandidas de ramos vegetativos e reprodutivos, utilizando-se um fluorímetro portátil Handy-PEA<sup>®</sup> (Hansatech, UK) e os resultados foram tabulados e trabalhados com auxílio do software PEA Plus (versão 1.01) e Biolyzer (MALDONADO-RODRÍGUEZ, 2000), os quais extraíram os valores de fluorescência transiente. Os parâmetros avaliados foram:  $F_0$ ;  $F_M$ ;  $F_V/F_0$ ;  $\phi_{P_0}$ ;  $\psi_0$ ;  $K_n$ ;  $K_p$ ; ABS/RC; TR0/RC; ET0/RC; DI0/RC; RC/ABS;  $\phi_{P_0}/(1 - \phi_{P_0})$ ;  $\psi_0/(1 - \psi_0)$ ;  $PI_{ABS}$ .

### *Teores de pigmentos*

Foram avaliados os teores de pigmentos foliares (clorofilas a e b e carotenóides) adaptando-se metodologia de Santos et al. (2007). Cinco discos de 4,5 mm foram retirados das mesmas folhas utilizadas para a medição da fluorescência da clorofila a e foram depositados em tubos de ensaio, devidamente identificados, contendo 5 ml de dimetilsulfóxido (DMSO). Esses tubos foram mantidos no escuro durante 26 horas e os extratos foram lidos em espectrofotômetro (FEMTO<sup>®</sup>, modelo 700 plus) nos comprimentos de onda de 480, 645 e 663 nm. Para a determinação dos teores de clorofila a e b e carotenóides foram utilizadas as equações propostas por Hendry e Price (1993), adaptadas de maneira a obter os resultados finais expressos em  $\mu\text{mol.gMS}^{-1}$ .

### *Estimativa da produção e análises pós-colheita dos frutos*

A fim de determinar a influência do parasitismo do nematóide sobre a produção das plantas, foi feita a contagem do número de frutos formados em cada planta e calculado a massa média de  $\frac{1}{3}$  do número de frutos de cada planta. A estimativa de produção, expressa em Kg/planta foi, então, calculada pela fórmula 1:

$$\text{Produção (Kg.planta}^{-1}\text{)} = (\text{Mf.planta}^{-1}\text{)} \times (\text{Nf.planta}^{-1}\text{)} \quad (1)$$

Onde, Mf = massa média dos frutos (Kg) e Nf = número de frutos

Os frutos colhidos foram acondicionados em caixas térmicas e imediatamente levados ao laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, onde foram lavados em água corrente e dispostos em câmara fria a 8°C por 24 horas, até o início das análises. A cada dois dias (totalizando 7 dias) foram retiradas amostras de polpa dos diferentes grupos visuais para avaliar o teor de sólidos solúveis (SS), utilizando-se um refratômetro de mão (Instrutherm<sup>®</sup>, BR); acidez titulável (AT) (AOAC, 1992); razão SS/AT, obtida pelo quociente entre SS e AT; e perda de matéria fresca (PMF), considerando a diferença entre massa do fruto no determinado período de análise e a massa do período anterior, utilizando-se uma balança Semi Analítica Gehaka<sup>®</sup>, modelo BG-400. As análises foram realizadas em laboratório, a 20°C.

### *Análises estatísticas*

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se, 3 tratamentos e cinco repetições. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA) e quando significativas pelo teste F (5%), as médias foram comparadas pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ). A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa ASSISTAT 7.5b (SILVA, 2008). Os dados obtidos pelas análises da cinética da emissão da fluorescência da clorofila *a* foram normalizados em Log10, já que estas medidas não seguem uma distribuição normal ou Gaussiana (LAZÁR, 2006).

## **Resultados e discussão**

### *Fluorescência da clorofila a*

No período de pré-colheita foi observada maior emissão de fluorescência inicial ( $F_0$ ) nos ramos reprodutivos das plantas sintomáticas (Figura 1A).  $F_0$  representa frações de energia absorvidas pelo complexo antena e não transmitidas na cadeia transportadora de elétrons (RASCHER et al., 2000), indicando menor potencial no aproveitamento da energia de excitação (BOLHÀR-NORDENKAMPF; ÖQUIST, 1993). Os valores de  $F_0$  encontrados nas plantas parasitadas, principalmente nas sintomáticas, foram também acompanhados por uma queda em  $K_p$ , a constante de dissipação fotoquímica, e um ligeiro acréscimo em  $K_n$ , a constante de dissipação não-fotoquímica, parâmetros que descrevem a eficiência da clorofila em controlar processos de dissipação de energia sob a forma de calor ou emissão de fluorescência, além de indicar a eficiência na conservação de energia durante o transporte de elétrons. Estando associadas a  $F_0$ , essas constantes podem indicar algum tipo de estresse capaz ou não de provocar danos irreversíveis no aparelho fotossintético (BUSSOTI et al., 2007). A maior  $F_0$  refletiu, ainda, no baixo rendimento quântico máximo do FSII ( $\phi_{P_0}$ ), indicador da dissipação fotoquímica potencial de energia (KRAUSE; WEIS, 1991), e no rendimento quântico efetivo de conversão de energia ( $\phi_{P_0}/(1 - \phi_{P_0}) = F_v/F_0$ ), demonstrativo da eficiência máxima primária da

fotoquímica do FSII, estimando a capacidade fotossintética da folha (SCHREIBER et al., 1994).

Apesar da maior eficiência na absorção (ABS/RC) e captura ( $TR_0/RC$ ) de energia radiante, as plantas sintomáticas apresentaram menor densidade de centros de reação ativos com base na absorção (RC/ABS) e altas taxas de dissipação de energia ( $DI_0/RC$ ), o que provavelmente prejudicou o fluxo de elétrons por centro de reação ( $ET_0/RC$ ) e a reduziu probabilidade dos elétrons se moverem além de  $Q_A^-$  ( $\psi_0 = ET_0/TR_0$ ), dificultando a manutenção dos mesmos na cadeia transportadora de elétrons (CHRISTEN et al., 2007). Os baixos valores de RC/ABS e de  $F_V/F_0$ , associados à performance insatisfatória das reações de oxi-redução após a redução de  $Q_A^-$  [ $\psi_0/(1 - \psi_0)$ ] nas plantas sintomáticas, indicaram, também, uma menor eficiência na utilização da energia absorvida nos processos fotoquímicos, tendo como consequência um índice de desempenho ( $PI_{ABS}$ ) reduzido quando comparado às plantas saudas e aquelas parasitadas e assintomáticas.

Nos ramos vegetativos (Figura 1B), as plantas sintomáticas continuaram apresentando ineficiência na utilização da energia absorvida pelos centros de reação e um consequente menor desempenho. Este comportamento foi, provavelmente, provocado pelos baixos valores de RC/ABS,  $F_V/F_0$  e  $\psi_0/(1 - \psi_0)$ , além de alta  $DI_0/RC$ . As plantas assintomáticas, entretanto, apresentam diferenças na resposta fotoquímica dos diferentes ramos, mostrando-se semelhante às plantas sintomáticas nos ramos vegetativos, enquanto nos reprodutivos, assemelha-se às plantas saudas.

Após a colheita dos frutos, observou-se, tanto nos ramos reprodutivos quanto nos vegetativos (Figura 1 C e D, respectivamente), que as plantas sintomáticas continuaram apresentando um rendimento fotossintético insatisfatório quando comparadas às plantas saudas. Apesar de ABS/RC,  $TR_0/RC$  e  $ET_0/RC$  terem sido mais elevados que os observados nas plantas controle, altos valores de  $F_0$  e  $DI_0/RC$  foram encontrados nessas plantas, o que provavelmente refletiu na queda do  $F_V/F_0$ , o qual associado a uma menor RC/ABS provocou queda na utilização da energia absorvida pelos centros de reação e um menor desempenho das plantas. Verificou-se, também, que após a retirada dos frutos não foram observadas alterações

significativas entre as plantas saudias e assintomáticas nos ramos vegetativos, assim como foi observado nos ramos reprodutivos do período anterior à colheita.

Provavelmente, as plantas assintomáticas estão em um estágio de menor desenvolvimento da doença, com menor comprometimento das raízes, o que facilita a absorção de água e nutrientes em comparação às plantas sintomáticas. Assim, essas plantas conseguem ainda responder à presença dos frutos, como descrito por Regina (1995), estimulando o processo fotossintético nos ramos reprodutivos, em detrimento do desenvolvimento vegetativo. Após a retirada dos frutos, há a interrupção do estímulo e a planta parece iniciar a recuperação do seu desenvolvimento vegetativo.

O reflexo destes comportamentos específicos no comportamento geral das plantas (figura 2) demonstra que tanto no período anterior a colheita dos frutos quanto no posterior, as plantas sintomáticas possuem uma baixa eficiência fotossintética, com alta emissão de  $F_0$  e grande  $DI_0/RC$ , enquanto as plantas assintomáticas parecem demonstrar um comportamento semelhante ao apresentado pelas plantas saudias, provavelmente por estarem em estágio menos avançado da doença.

### *Teores de Pigmentos*

Em ambos os períodos avaliados, os teores de clorofila *a* e *b*, clorofila total e carotenóides encontrados foram menores nas plantas parasitadas, principalmente naquelas em estágio mais avançado da doença (Tabela 1), o que provavelmente é decorrente de deficiência nutricional provocada pela dificuldade na absorção de água e nutrientes.

Pela ligação direta com a absorção, captura e transferência de energia luminosa, os teores de clorofila e carotenóides nas folhas podem ser utilizados para estimar o potencial fotoquímico das plantas (CHAPPELLE; KIM, 1992). Os reduzidos teores de pigmento encontrados nas plantas parasitadas, principalmente naquelas em estágio mais avançado da doença, podem estar associados ao funcionamento inadequado do complexo antena, reduzindo a eficiência de captação da energia e seu

encaminhamento aos centros de reação (SCHREIBER et al., 2002). Essa menor captação pode estar relacionada aos menores valores de  $RC/ABS$ ,  $F_v/F_0$  e  $\psi_o/(1 - \psi_o)$  encontrados, os quais refletem uma baixa eficiência na utilização da energia nos processos fotoquímicos e uma menor vitalidade das plantas.

Segundo Catunda et al. (2005), muitas vezes a degradação da clorofila ou o aumento nos teores de carotenóides ocorre quando a planta se encontra sob algum tipo de estresse, a fim de proteger o aparato fotossintético de degradação, e a relação entre clorofilas e carotenóides pode ser indicativa desse alguma variação ambiental, entretanto, só foi encontrada diferença significativa nessa relação durante a pré-colheita e nas plantas sintomáticas, ou seja, que apresentavam o maior comprometimento fotoquímico (Tabela 1). De acordo com Streit et al. (2005), as clorofilas *a* e *b* ocorrem nas plantas na proporção de 3:1, aproximadamente. Entretanto, no presente estudo, os valores apresentados para esta relação foram de aproximadamente 1:1 (Tabelas 1).

#### *Produção de frutos e análises pós-colheita*

O estímulo gerado pela presença dos frutos (drenos), segundo Regina (1995), aumenta a eficiência fotossintética e, conseqüentemente, a taxa de assimilação de carbono pela folha, o qual é distribuído pela planta de acordo com um padrão fonte-dreno. Inúmeros trabalhos, entretanto, consideram que a presença dos nematóides é capaz de alterar de maneira significativa a distribuição dos fotoassimilados, transformando as raízes parasitadas em regiões de dreno forte, que acabam por competir com os frutos pelos fotoassimilados produzidos nas folhas. Carneiro et al. (1999), por exemplo, ao realizarem testes com plantas de soja parasitadas por *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*, concluíram que os nematóides são responsáveis pela alteração na distribuição dos compostos de carbono, priorizando o sistema radicular. Resposta semelhante foi encontrada em estudo de Poskuta et al. (1986), no qual observaram que o estabelecimento dos sítios de infecção na raiz favorecem a formação de uma região de dreno forte e facilitam a alocação de

fotoassimilados para esta região em detrimento da parte aérea, promovendo uma competição entre os frutos e o sistema radicular na aquisição dos fotoassimilados.

Neste trabalho, a competição por fotoassimilados entre o sistema radicular e os frutos pareceu ser mais drástica nas plantas sintomáticas, provavelmente por se apresentarem em um estágio mais avançado da infecção pelo patógeno. Esta condição refletiu diretamente na formação de frutos de menor calibre e em uma menor produção, em comparação às plantas sadias (Tabela 2).

Quanto às análises físico-químicas, pode-se observar tendência de incremento nos valores de acidez titulável e sólidos solúveis ao longo do experimento, tendo os frutos representativos das plantas controle apresentado os níveis iniciais mais baixos (Tabela 3). Estes resultados se devem, provavelmente, a uma relação negativa entre a concentração de ácidos orgânicos e açúcares e o tamanho dos frutos, evidenciando um possível efeito de diluição, como observado por Jackson et al. (1995). O teor de sólidos solúveis e acidez titulável são parâmetros importantes na determinação da qualidade dos frutos e a quantificação da relação entre estes (Tabela 3) é um importante indicativo de sabor pelo balanço entre os açúcares e ácidos presentes na fruta (RUTZ et al., 2009). Observou-se que os frutos tenderam a aumentar esta razão ao longo do experimento, fato que pode estar correlacionado à perda de matéria fresca (PMF), a qual pode ter provocado maior concentração dos solutos.

A PMF (Tabela 4) foi influenciada apenas pelo período de armazenamento e não foi verificada interação entre os grupos de plantas estudados. Segundo Hojo et al. (2008), a perda de massa é uma variável associada com a qualidade do fruto. Tal perda se deve a processos fisiológicos, como a respiração e a transpiração, os quais resultam na redução da quantidade da água presente no tecido vegetal, resultando não somente em perdas quantitativas, mas também na aparência, qualidades texturais e nutricionais do produto.

## **Conclusões**

1. As plantas parasitadas mostraram ineficiência na manutenção adequada de processos fisiológicos, como a fotossíntese.
2. Verificou-se uma menor produção e formação de frutos, sendo estes de menor tamanho nas plantas parasitadas, possivelmente em decorrência da modificação no padrão de distribuição de fotoassimilados causada pela presença do patógeno, o que favoreceu a incorporação destes na raiz em detrimento dos frutos.
3. As plantas com infestação nas raízes, porém assintomáticas, encontram-se em fase menos avançada da doença, com um menor comprometimento do sistema radicular, o que provavelmente permitiu uma melhor distribuição dos fotoassimilados, quando comparada as plantas sintomáticas.

### Agradecimentos

Ao Ministério da Ciência e Tecnologia, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, ao Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural e ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal-UFES, pelo apoio financeiro e operacional durante a realização desta pesquisa

### Referências

AOAC - Association of Official Agricultural Chemists. **Official methods of analysis of the Association of the Agricultural Chemists**. 12 ed. Washington: A.O.A.C., 1992.

ABRÃO, M. M.; MAZZAFERA, P. Efeitos do nível de inóculo de *Meloidogyne incognita* em algodoeiro. **Bragantia**, v. 60, n. 1, p. 19-26, 2001.

BAKER, N.R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v.55, p.1607-1621, 2004.

BARBOSA, D. H. S. G. **Levantamento dos nematóides de galha (*Meloidogyne* spp.) em áreas cafeeiras fluminenses e estimativa dos seus danos à**

**produtividade regional**. 2003. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2003.

BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R.; ÖQUIST, G. O. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: HALL, D.O. et al. (Ed.). **Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual**. London: Chapman e Hall, 1993. p.193-206.

BUSSOTI, F; STRASSER, R. J.; SCHAUB, M. Photosynthetic behavior of woody species under high ozone exposure probed with the JIP-test: A review. **Environmental Pollution**, v.147, p. 430-437, 2007.

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

CATUNDA, M. G; FREITAS, S. P.; OLIVEIRA, J. G.; SILVA, C. M. M. Efeitos de herbicidas na atividade fotossintética e no crescimento de abacaxi (*Ananas comosus*). **Planta Daninha**, v. 23, n. 1, p. 115-121, 2005.

CHAPPELLE, E. W.; KIM, M. S. Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): na algorithm for a remote estimation os the concentrations of the chlorophyll A, chlorophyll B and carotenoids in soybean leaves. **Remote sensing of Environment**, v. 39, p. 239-247, 1992.

CHRISTEN, D.; SCHÖNMANN, S.; JERMINI, M.; STRASSER, R. J.; DÉFAGO, G. Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress responses to Esca disease by in situ chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, p. 504–514, 2007.

DUARTE, T. S; PEIL, R. M. N.; BACCHIS, S.; STRASSBURGUER, A. S. Efeito da carga de frutos e concentrações salinas no crescimento do meloeiro cultivado em substrato. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 348-353, 2008.

HENDRY, G. A. F.; PRICE, A. H. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: HENDRY, G. A. F.; GRIME, J. P. **Methods in Comparative Plant Ecology, a laboratory manual**. London: Chapman e Hall, 1993, p.148-152.

HOJO, E. T. D.; REBOUÇAS, T. N. H.; SÃO JOSÉ, A. R.; HOJO, R. H.; BARRETO, A. P. P. Qualidade de goiabas 'Paluma' minimamente processadas tratadas com 1-metilciclopropeno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 503-508, 2008.

JACKSON, L.K.; ALVA, A.K.; TUCKER, D.P.H.; CALVERT, D.V. Factors to consider in developing a nutrition program. In: TUCKER, D.P.H.; ALVA, A.K.; JACKSON, L.K.;

WHEATON, T.A (Ed.). **Nutrition of Florida citrus trees**. Gainesville: University of Florida, 1995, p. 3-11.

KRAUSE, G.H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. Annual Review Plant Physiology. **Plant Molecular Biology**, v.42, p.313-349, 1991.

LAZÁR, D. The polyphasic chlorophyll a fluorescence rise measured under high intensity of exciting light. **Functional Plant Biology**, v. 33, n. 1, p. 9-30, 2006.

LIMA, I.M., MARTINS, M.V.V., SERRANO, L.A.L, CARNEIRO, R.M.D.G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira cv. 'Paluma' no estado do Espírito Santo. Resumo. In: XXVII CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 2007, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UFG, 2007, p. 96-97.

MALDONADO-RODRÍGUEZ, R. **BioLyzer**: program developed in the Bioenergetics Laboratory of Geneva and available as free ware. 3.0. Geneva: Fluoromatics, 2000.

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

RASCHER, U.; LIEBIG, M.; LÜTTGE, U. Evaluation of instant light-responses curves of chlorophyll parameters obtained with a portable chlorophyll fluorometer on site in the field. **Plant Cell Environment**, v. 23, n. 12, p. 1397-1405, 2000.

REGINA, M. A. Influencia dos frutos sobre a fotossíntese das folhas em *Vitis vinifera*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 7, n. 2, p. 165-169, 1995.

RUTZ, J. K.; VOSS, G. B.; ZAMBIAZI, R. C. Relação entre os teores de sólidos solúveis totais e acidez total titulável presentes na amora-preta (*Rubus* spp) em diferentes estádios de maturação. In: XVIII CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2009, Pelotas. **Anais...** Pelotas: UFPel, 2009, p.171.

SANTOS, R. P.; CRUZ, A. C. F. da; IAREMA, L.; FERNANDES, K. R. G.; KUKI, K. N.; OTONI, W. C. Avaliação da Eficiência do dimetilsulfóxido na extração de pigmentos foliares de *Vitis vinifera* x *V. rotundifolia* e *V. riparia* propagadas *in vitro*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 888-890, 2007.

SCHREIBER, U.; BILIGER W.; NEUBAUER C. Chlorophyll fluorescence as a no intrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In: SCHULZE, E.D., CALDWELL, M.M. (eds). **Ecophysiology of Photosynthesis**, Berlin, 1994, p. 49-70.

SCHREIBER, U.; MÜLLER, J. F.; HAUGG, A.; GADEMANN, R. New type of dual-channel PAM chlorophyll fluorometer for highly sensitive water toxicity biotests. **Photosynthesis Research**, v. 74, p. 317–330, 2002.

SERRANO, L. A. L.; MARINHO, C. S.; RONCHI, C. P.; LIMA, I. M.; MARTINS, M. V. V.; TARDIN, F. D. Goiabeira 'Paluma' sob diferentes sistemas de cultivo, épocas e intensidades de poda de frutificação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.6, p.785-792, 2007.

SILVA, F. A. S. **Assistat**: assistência estatística. 7.5. Campina Grande: UFCG, 2008.

STREIT, N. M. As clorofilas. **Ciência Rural**, v.35, n.3, p.748-755, 2005.

VENTURA, J. A.; COSTA, H. Manejo Integrado das doenças da goiabeira. In: COSTA, A. F. S. da; COSTA, A. N. da (Eds.). **Tecnologias para produção de goiaba**. Vitória: INCAPER, 2003. p. 233-282.

## Tabelas e figuras

1  
2  
3  
4

**Tabela 1** - Teores e relações entre pigmentos foliares em plantas de goiabeira cv. Paluma nos períodos pré e pós-colheita.

Grupo <sup>1</sup>	Teores de Pigmentos									
	Pré-colheita					Pós-colheita				
	Chl a	Chl b	Carot.	Chl a/b	Chl/Carot.	Chl a	Chl b	Carot.	Chl a/b	Chl/Carot.
Controle	5,727a <sup>1</sup>	5,106a	2,684a	1,12a	4,09a	5,453a	5,202a	3,125a	1,08a	3,37a
PA	4,775b	4,179b	2,505ab	1,14b	3,65a	5,23a	4,458a	2,928a	1,19a	3,33a
PS	3,718c	3,506b	2,248b	1,06c	3,38b	3,252b	2,771b	2,041b	1,11a	2,93a

5 Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

6 <sup>1</sup>Controle – planta sadias; PA – Parasitada e assintomática; PS – Parasitada e sintomática.

7

8 **Tabela 2** - Valores médios referentes ao diâmetro longitudinal, diâmetro equatorial e estimativa da produção em pomar de goiabeira cv. Paluma infestado  
9 com *Meloidogyne mayaguensis*.

Grupo <sup>1</sup>	Diâmetro longitudinal (cm)	Diâmetro equatorial (cm)	Estimativa da produção (Kg/planta)
Controle	7,582a <sup>1</sup>	6,507 <sup>a</sup>	78,055a
PA	6,788b	6,154b	39,929b
PS	5,579c	5,500c	12,648c

10 Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

11 <sup>1</sup>Controle – planta sadias; PA – Parasitada e assintomática; PS – Parasitada e sintomática.

12

13

14 **Tabela 3** - Valores médios referentes aos sólidos solúveis, acidez titulável e relação SS/AT de frutos da de goiabeiras cv. Paluma sadias e parasitadas (PA –  
 15 Parasitada e assintomática; PS – Parasitada e sintomática) por *Meloidogyne mayaguensis*.

Grupo	Sólidos solúveis (°BRIX)				Acidez titulável (% de Ác. Cítrico)				Relação SS/AT			
	Dia 1	Dia 3	Dia 5	Dia 7	Dia 1	Dia 3	Dia 5	Dia 7	Dia 1	Dia 3	Dia 5	Dia 7
Controle	5,53bD	7,70bC	10,07aB	10,80aA	0,67bC	0,74bBC	1,07aAB	1,28aA	6,33bB	6,63aB	8,37abA	8,27bA
PA	7,40aC	8,43abC	9,63aB	10,63aAB	1,10aA	1,23aA	1,02aA	1,27aA	7,04abB	6,91aB	9,45aA	8,47aAB
PS	7,67aC	8,60aC	8,20bC	10,43aB	0,89abB	1,17aAB	1,21aAB	1,31aA	11,49aA	11,96aA	7,66bA	8,19bA

16 Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna indicam não haver diferença estatística entre os tratamentos e médias seguidas de mesma letra  
 17 maiúscula na linha indicam não haver diferença estatística entre os pontos de análise pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

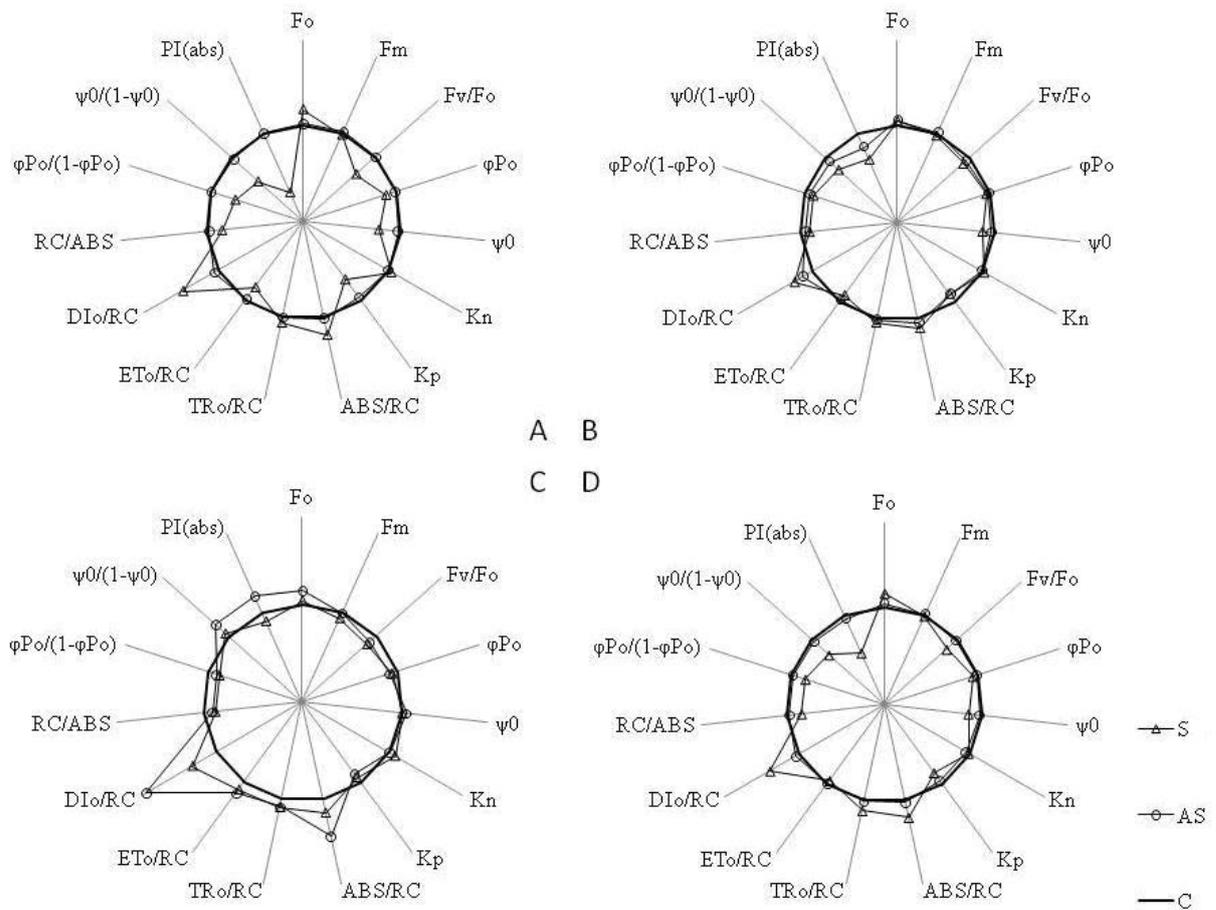
18

19

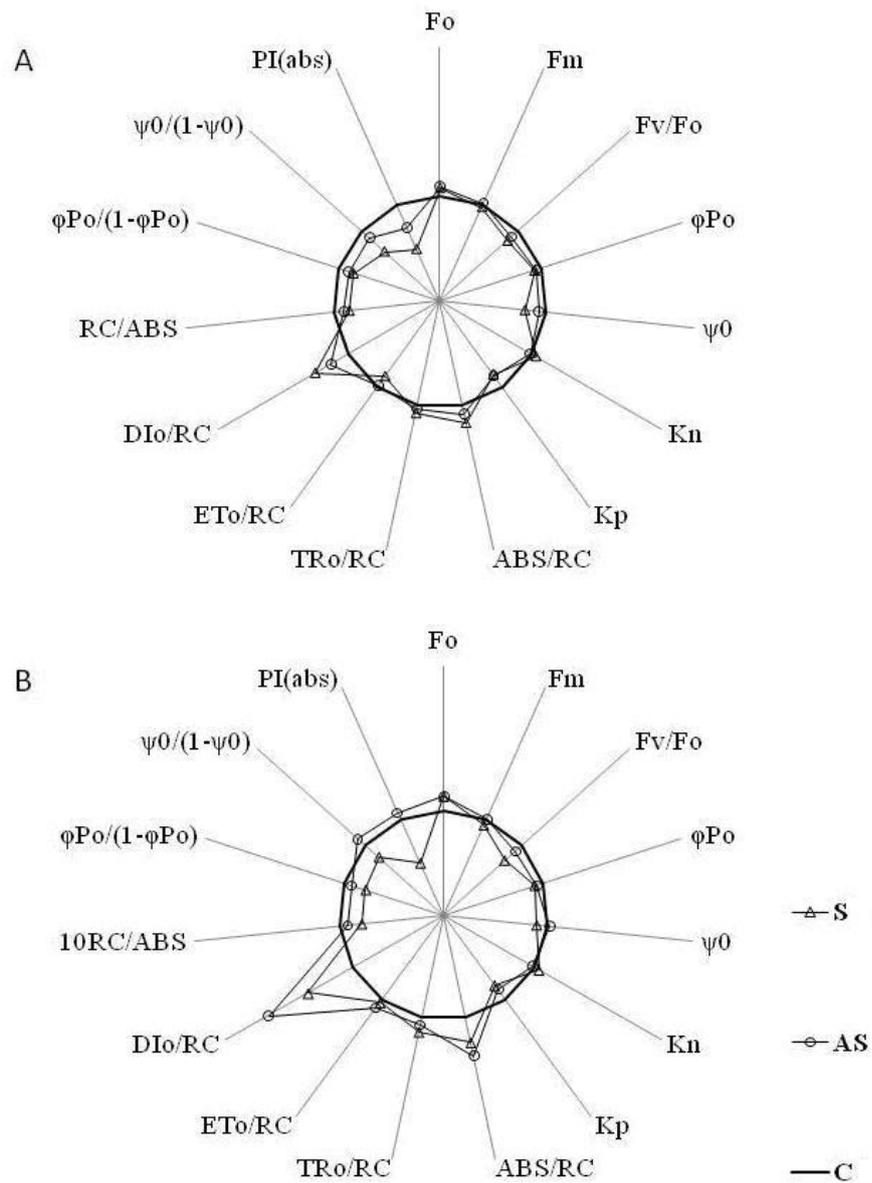
20 **Tabela 4** - Valores médios referentes à perda de matéria fresca de frutos da de goiabeiras cv. Paluma sadias e parasitadas (PA – Parasitada e  
 21 assintomática; PS – Parasitada e sintomática).

Grupo	Perda de matéria fresca (%)			
	Dia 1	Dia 3	Dia 5	Dia 7
Controle	–	4,87aA	4,34aAB	4,55aB
PA	–	4,31aA	3,91aB	4,17bA
PS	–	4,58aA	4,09aAB	4,32aB

22 Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna indicam não haver diferença estatística entre os tratamentos e médias seguidas de mesma letra  
 23 maiúscula na linha indicam não haver diferença estatística entre os pontos de análise pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).



**Figura 1-** Parâmetros relativos à emissão de fluorescência da clorofila *a* em ramos reprodutivos e vegetativos de goiabeira cv. Paluma. A e B representam ramos reprodutivos e vegetativos, respectivamente, na pré-colheita. C e D representam ramos reprodutivos e vegetativos, respectivamente, na pós-colheita. S – Planta parasitada e sintomática; AS – Planta parasitada e assintomática; C – Controle.  $n = 5$ .



**Figura 2** - Parâmetros relativos a emissão de fluorescência da clorofila *a* em goiabeira cv. Paluma nos períodos pré (A) e pós-colheita (B) dos frutos. S – Planta parasitada e sintomática; AS – Planta parasitada e assintomática; C – Controle.  $n = 10$ .

## 5 CONCLUSÕES

1. A presença do nematóide-das-galhas da goiabeira no Estado do Espírito Santo deve ser encarada como um desafio, já que as plantas jovens, mesmo com elevado parasitismo nas raízes, não mostraram diferenças na eficiência de processos fisiológicos, como a fotossíntese. Em plantas adultas no campo verificou-se deficiências que estariam associadas à redução do desenvolvimento das plantas e, conseqüentemente, na produção dos frutos, trazendo prejuízos aos produtores rurais.
2. É provável que a formação de frutos de menor tamanho e a redução da produção observada nas plantas parasitadas sejam decorrentes da modificação no padrão de distribuição de fotoassimilados provocada pela presença dos nematóides, a qual favorece a incorporação destes na raiz em detrimento dos frutos.
3. As plantas assintomáticas possivelmente encontravam-se com menor severidade da doença, com um menor comprometimento do sistema radicular, o que provavelmente permitiu uma melhor distribuição dos fotoassimilados, quando comparadas às plantas sintomáticas, as quais já exteriorizavam na parte aérea os danos fisiológicos provocados pela desorganização dos tecidos radiculares.
4. Nas condições experimentais deste estudo, a técnica da medição da fluorescência da clorofila *a* não se mostrou sensível à detecção precoce do nematóide-das-galhas da goiabeira. Para a detecção dos nematóides no sistema radicular é necessária a análise nematológica das raízes e da rizosfera.

## 6 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, E. J. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba (*Psidium guajava*) no estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.1, p. 112, 2006.
- AOAC - Association Of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 11. ed. Washington DC: AOAC, 1992. 1115p.
- BAKER, N.R.; ROSENQVST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.55, p.1607-1621, 2004.
- BAKER, N. R. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, n. 59, p. 89–113, 2008.
- BARBOSA, D. H. S. G. **Levantamento dos nematóides de galha (*Meloidogyne spp.*) em áreas cafeeiras fluminenses e estimativa dos seus danos à produtividade regional**. 2003. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2003.
- BIRD, D.M. Signaling between nematodes and plants. **Current Opinion in Plant Biology**, Netherlands, v. 7, p. 372–376, 2004.
- BONETI, J.I.S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, n.3, p.553, 1981.
- BUENO et al. Primeiro relato de ocorrência do nematóide *Meloidogyne mayaguensis* em acerola, na região de Garça, SP, **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, São Paulo, n. 2, p. 1-2, 2007.
- CAMPOSTRINI, E. **Fluorescência da clorofila a: considerações teóricas e aplicações práticas**, 2001. 31p. (apostila)
- CARNEIRO, R.M.D.G. et al. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 223-228, 2001.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. D. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides de galhas para a identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**, Brasília, n. 25, v. 1, p. 35-44, 2001.

CARNEIRO, R. M. D. G. et al. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* parasitando plantas de tomate e pimentão resistentes a Meloidoginose no Estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 81-86, 2006.

CHASE, A.R.; KAPLAN, O.; OSBORNE, L.S. Nematode pests of tropical foliage plants and leatherleaf. **Agricultural Research Educational Centre**, Apopka, v.32, n.1, p.83-85, 1983.

CHRISTEN, D. et al. Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress responses to Esca disease by in situ chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, n. 60, p. 504–514, 2007.

CID, L. P. B.; CARNEIRO, R. **Embrapa investe em técnicas de biotecnologia para controlar nematóide da goiabeira**. 2007. Disponível em: <[www.agrosoft.org.br/?q=node/25018](http://www.agrosoft.org.br/?q=node/25018)>. Acesso em: 10 de abril de 2009.

COFCEWICZ, E. T. et al. Reação de cultivares de bananeira a diferentes espécies de nematóides-das-galhas. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n.1, p. 11-22, 2004.

COSTA, M.J.N.et al. Nematóides em plantas ornamentais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 5, p. 1127-1132, 2001.

COSTA, A. F. S.; PACOVA, B. E. V. Botânica e variedades. In: COSTA, A. F. S.; COSTA, A. N. (Eds). **Tecnologias para produção de goiaba**. Vitória: INCAPER, 2003, p. 27-56.

COSTA, L. L.; PEIXOTO, N.; FERNANDES, J. V. **Seleção de plantas matrizes e obtenção de clones por meio de estacas herbáceas de goiabeira**. 2007. Disponível em: <[http://www.prp.ueg.br/06v1/ctd/pesq/inic\\_cien/eventos/sic2007/flashsic2007/arquivos/resumos/resumo139.pdf](http://www.prp.ueg.br/06v1/ctd/pesq/inic_cien/eventos/sic2007/flashsic2007/arquivos/resumos/resumo139.pdf)>. Acesso em 10 de abril de 2009.

DE WAELE, D. & R.G. DAVIDE. The root-knot nematodes of bananas. *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949. **Musa Pest Factsheet**, n. 2, Montpellier: INIBAP, 1998, 4 p.

EMBRAPA. **Distribuição Geográfica de Nematóides no Brasil**. 2002. Disponível em: <<http://icewall2.cenargen.embrapa.br:83/nemweb/nemhtml/nmbd02a.asp>>. Acesso em: 11 de abril de 2009.

ENÉAS FILHO, J.; MIRANDA, M. R. A. de; SILVEIRA, J. A. G. da. **Fisiologia vegetal**, 2010. 40p. (apostila)

FORCE, L.; CRITCHLEY, C.; VAN RENSEN, J. J. S. New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. **Photosynthesis Research**, Netherlands, v. 78, p. 17 - 33, 2003.

GODDIJN, O. J. M. et al. Differential gene expression in nematode-induced feeding structures of transgenic plants harboring promoter-gusA fusion constructs. **The Plant Journal**, v. 4, p. 863-873, 1993.

GOWEN, S; QUÉNÉHERVÉ, P. Nematode parasites of banana, plantains and abaca. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford: CAB International, 1990, p.431-460.

HENDRY, G. A. F.; PRICE, A. H. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: HENDRY, G. A. F.; GRIME, J. P. **Methods in Comparative Plant Ecology, a laboratory manual**. London: Chapman e Hall, 1993, p.148-152.

HUSSEY, R.S. Host-parasite relationships and associated physiological changes. In: SASSER, J.N.; CARTER, C.C. (Eds.). **An advanced treatise on Meloidogyne: biology and control**. Raleigh: North Carolina State University, 1985. p.143-153.

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

JÚNIOR, L. **Fruticultura gera emprego e renda no Espírito Santo**. 2009. Disponível em: <<http://www.seag.es.gov.br/?p=9617>>. Acesso em: 08 de janeiro de 2009.

KRAUSE, G.H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. Annual Review Plant Physiology. **Plant Molecular Biology**, Netherlands, v.42, p.313-349, 1991.

LAZÁR, D. The polyphasic chlorophyll a fluorescence rise measured under high intensity of exciting light. **Functional Plant Biology**, Australia, v. 33, n. 1, p. 9-30, 2006.

LEDGER, T.N. et al. Characterization of a new  $\beta$ -1,4-endoglucanase gene from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and evolutionary scheme for phytonematode family 5 glycosyl hydrolases. **Gene**, v. 382, p. 121-128, 2006.

LIMA, I. M. **Detecção de *Meloidogyne* spp. (Nematoda) em remanescentes de mata atlântica das regiões noroeste e serrana do estado do Rio de Janeiro**. 2003. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Programa de Pós-graduação em

Produção Vegetal, Universidade Estadual Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2003.

LIMA, I. M. et al. **O Nematóide-das-galhas da goiabeira: uma ameaça para a cultura**. 2007a, 4p. (folder)

LIMA, I. M. et al. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira 'Paluma' no Estado do Espírito Santo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 27., 2007, Goiânia. **Anais...** Goiânia, 2007b. p. 96 - 97.

LIMA, I. M. Novos focos de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeiras no estado do Espírito Santo. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2008, Vitória. **Anais...** Vitória: INCAPER, 2008. CD-ROM.

LIMA, I. M. et al. Efeito da densidade populacional de *Meloidogyne mayaguensis* nas características produtivas de goiabeiras Paluma cultivada em sistema de sequeiro no norte do estado do espírito santo. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2008, Vitória. **Anais...** Vitória: INCAPER, 2008. CD-ROM.

MANICA, I. et al. **Fruticultura Tropical 6: Goiaba**. Porto Alegre: Cinco Continentes Editora Ltda, 2000, 374 p.

MARIN, D. H.; SUTTON, T. B.; BARKER, K. R. Dissemination of bananas in Latin América and Caribbean and its relationship to de occurrence of Radopholus similis. **Plant Disease**, v. 82, n. 9, p.964-974, 1998.

MARTINS, M. **GranExpoES vai focar fruticultura do Espírito Santo**. 2009. Disponível em: <<http://www.ceasa.es.gov.br/?p=930>>. Acesso em: 10 de abril de 2009.

MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Microencapsulação do licopeno com ciclodextrinas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 102-105, 2003.

MEDINA, I et al. Caracterização e identificação de populações de nematóides-das-galhas provenientes de figueiras (*Ficus carica* L.) do Rio Grande do Sul e São Paulo. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 179-187, 2006.

MENZEL, C.M. Propagation of lychee: a review. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.25, p.31-48, 1985.

MOREIRA, W. A., et al. Subsídios ao manejo integrado de nematóides-das-galhas em goiabeira no submédio do vale do São Francisco, Brasil. In: PRIMER SIMPÓSIO DE LA GUAYABA, **Anais...** Águas calientes, México, 2003a, p. 233-243.

MOREIRA, W.A. et al. Nematóides associados à goiabeira no Vale do Submédio São Francisco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 24, 2003, Petrolina. **Anais...**, Petrolina, 2003b, p.136.

MOREIRA, W.A. et al. Espécies de nematóides-das-galhas associadas a culturas no Submédio São Francisco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25, 2003, Petrolina. **Anais...**, Petrolina, 2003c, p.137.

MOURA, R. M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose: Partel. In: LUZ, W. C.(Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, 1996. v.4, p. 209-244.

MOYSÈS, F. **Localização estratégica do ES atrai empresas e investimentos**. 2006. Disponível em: <[http://www.eshoje.com.br/arquivo/07/21\\_localizacao.htm](http://www.eshoje.com.br/arquivo/07/21_localizacao.htm)>. Acesso em: 10 de abril de 2009.

NACHREINER, M. L.; SANTOS, R. R. P.; BOTEON, M. Janelas de Mercado oportunidades e entraves no comércio internacional de frutas. **Revista Hortifruti Brasil**, Piracicaba, v.1, n.4, p.10-13, 2002.

NEVES, A. W. **Estado investe para ampliar área de fruticultura**. 2006. Disponível em: < <http://www.es.gov.br/site/noticias/show.aspx?noticiald=99656959>>. Acesso em:10 de abril de 2009.

OLIVEIRA, R. D. L.; SILVA, R. V. da.; PARIZZI, P. **Análise de risco de pragas não-quarentenárias regulamentadas**. 2009. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=15150>>. Acesso em: 20 de junho de 2009.

PEREIRA, A. M. **Identificação e manejo de nematóides da bananeira no leste do estado do Paraná**. 2006. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Universidade Estadual Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2006.

PEREIRA, F.M. **Fruta tropical reconquista o mercado e ganha destaque internacional**. Goiabrás. 2003. Disponível em: <[http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra\\_conteudo.asp?conteudo=1441](http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=1441)>. Acesso em: 10 de junho de 2009.

PEREIRA, F.M.; MARTINEZ JÚNIOR, M. **Goiabas para a industrialização**. Ribeirão Preto: Legis Summa, 1986, 142p.

PIEIDADE NETO, A. Goiaba vermelha: fonte de riqueza à saúde, ao trabalho e às nações. In: ROZANE, D. E.; COUTO, F. A. **Cultura da goiabeira: tecnologia e mercado**, Viçosa:UFV, 2003, p. 39-51.

PIO, R. et al. **Cultura da goiabeira**. 2001. Disponível em: <[www.editoraufla.br/boletim/pdfextensao/bol\\_27.pdf](http://www.editoraufla.br/boletim/pdfextensao/bol_27.pdf)>. Acesso em: 10 de junho de 2009.

PROJETOS: Produção Integrada de Frutas. 2003. Disponível em: <<http://www.cati.sp.gov.br/projetos/PIF/>>. Acesso em: 11 de abril de 2009.

RITZINGER, C. H. S. P.; COSTA, D. C. Nematóides e alternativas de manejo. In: BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. **O cultivo da bananeira**. EMBRAPA: Cruz das Almas, 2004. p. 183-194.

ROSSI, C. E. Métodos de controle de nematóides compatíveis com a agricultura orgânica. **Agroecologia Hoje**, Botucatu, v.2, n.7, 2001.

ROZANE, D. E.; OLIVEIRA, D. A.; LÍRIO, V. S. Importância econômica da cultura da goiabeira. In: ROZANE, D. E.; COUTO, F. A. D. (ed.). **Cultura da goiabeira: Tecnologia e mercado**. Viçosa: UFV, 2003. p.1-20.

SANTOS, R. P. et al. Avaliação da Eficiência do dimetilsulfóxido na extração de pigmentos foliares de *Vitis vinifera* x *V. rotundifolia* e *V. riparia* propagadas in vitro. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 888-890, 2007.

SASSER, J.N. Root-knot nematodes: a global menace to crop production. **Plant Disease**, v. 64, n. 1, p. 36-41, 1980.

SASSER, J. N.; CARTER, C. C. Overview of the in international Meloidogyne project. (1975 – 1984). In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. (eds). **An Advanced treatise on Meloidogyne: Biology and control**. Raleigh: North Caroline State University Graphics, v. 1, p. 19 – 24, 1985.

SCHUERMANN, P. **Fruticultura**. 2008. Disponível em: < [http://www.vitoria-es-brasil.com/index.php?option=com\\_alphacontent&section=43&Itemid=404&limitstart=30](http://www.vitoria-es-brasil.com/index.php?option=com_alphacontent&section=43&Itemid=404&limitstart=30)>. Acesso em: 10 de abril de 2009.

SERRANO, L. A. L. et al. Goiabeira 'Paluma' sob diferentes sistemas de cultivo, épocas e intensidades de poda de frutificação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.6, p.785-792, 2007.

SILVA, A. E. S. Apresentação. In: COSTA, A. F. S.; COSTA, A. N. (Eds). **Tecnologias para produção de goiaba**. Vitória: INCAPER, 2003, p. 8.

SILVA, F. A. S. **Assistat**: assistência estatística. 7.5. Campina Grande: UFCG, 2008.

SILVA, R. A. Técnicas para evitar a dispersão dos nematóides no cerrado In: V CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 2005, Salvador-BA. **Anais...** Salvador: EMBRAPA, 2005. CD-ROM.

SINIMBU, F. **Figo, lichia e ramboatã são alternativas de renda para o semi-árido nordestino**. 2008. Disponível em: <<http://www.agrosoft.org.br/agropag/102726.htm>>. Acesso em: 09 de novembro de 2009.

SOUZA, O. P.; MANCIN, C. A.; MELO, B. 2009. **A cultura da goiabeira**. Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/goiabao.html>>. Acesso em: 19 de agosto de 2009.

STRASSER, B. J., STRASSER, R.J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP-test. In: MATHIS, P. (Ed.). **Photosynthesis: From Light to Biosphere**. Proceedings of the Xth International Photosynthesis Congress. Montpellier, France. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995, p. 977-980.

STRASSER, R. J; STIRBET A. D. Estimation of the energetic connectivity of PS II centres in plants using the fluorescence rise O–J–I–P. Fitting of experimental data to three different PS II models. **Mathematics and Computers in Simulation**, Netherlands, v. 56, p. 451-461, 2001.

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

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. 372p.

TIHOHOD, D. **Nematologia Agrícola Aplicada**, 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 473p.

TORRES, G. R. C. et al. *Meloidogyne mayaguensis*: novos assinalamentos no Rio Grande do Norte associados à goiabeira. **Caatinga**, Mossoró, v.20, n.2, p.106-112, 2007.

VIANA, J. G. A.; BARCHET, I.; SOUZA, R. S. de. Tendência histórica de preços pagos ao produtor de hortifrutigranjeiros do Rio Grande do Sul, Brasil.. In: IX ENCONTRO DE ECONOMIA GAÚCHA, **Anais...**, 2008, Porto Alegre, 2008.

WHITEHEAD, A. G. Sedentary Endoparasites of Roots and Tubers (*Meloidogyne* e *Nacobbus*). In: CAB INTERNATIONAL. **Plant Nematode Control**. Wallingford: CAB, 1997. p. 209-260.

XU, J. et al. Characterization of *Meloidogyne* species from China using isozyme phenotypes and amplified mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphism. **European Journal of Plant Pathology**, v. 110, p. 309-315, 2004.

ZAMBÃO, J. C.; BELLINTANI NETO, A. M. **Cultura da goiaba**. Campinas: CATI, 1998. 23 p. (Boletim Técnico, 236).