

Efeito do tempo de inoculação e de estocagem na penetração e migração de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines* em soja

Hercules Diniz Campos¹, Vicente Paulo Campos², Juliana Resende Campos Silva³, Luiz Henrique Carregal Pereira da Silva³, Lilian Simara Abreu Soares Costa² e Alan Rodrigues Teixeira Machado²

Resumo - Para o estudo da penetração e migração de juvenis de *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines*, foram definidas, nas raízes novas de soja cultivar Embrapa DOKO, duas regiões caracterizadas como: região 1 - da extremidade da coifa até o início da visualização dos feixes vasculares envolvendo a coifa, o meristema e os tecidos em formação e região 2 - a partir do início da visualização dos feixes vasculares. Nessas regiões foram quantificados os juvenis de segundo estágio (J2) após 4 períodos de inoculação e 3 períodos de estocagem em água. O tempo de inoculação afetou quantitativamente o número de (J2) de *M. javanica* nas regiões 1 e 2 das raízes de soja. Inicialmente (24h após a inoculação) os J2 de *M. javanica* aglutinaram-se na região 1. Com o passar do tempo, o número de J2, aumentava na região 2 que percorreram uma distância de 6 mm em 3 dias entre os feixes vasculares. Desta forma, evidenciou-se que o J2 de *M. javanica* penetra pela coifa. Diferentemente, juvenis de *H. glycines* não foram encontrados na região 1, e o número de J2 diminuiu na região 2 com o tempo. A maioria dos J2 de *H. glycines* foi encontrada a 20 mm da coifa ao lado de rupturas na epiderme da raiz, possivelmente o local de penetração dos juvenis, com movimento em direção ao cilindro central. O número total de J2 de *M. javanica* reduziu com o tempo de estocagem de 8 dias, assim como aqueles que se encontravam na região 2, porém a distância percorrida pelo J2 não foi alterada quando o tempo de estocagem foi de 4 dias. Entretanto todos os períodos de estocagem reduziram drasticamente os J2 de *H. glycines* observados na região 2. Portanto, os locais de penetração e migração e o efeito da estocagem de J2 são diferenciados em soja infestadas por *M. javanica* e por *H. glycines*.

Palavras-chave: *Meloidogyne javanica*, *Heterodera glycines*, migração

Effect of inoculation time and storage on the penetration and migration of second stage juveniles of *Meloidogyne javanica* and *Heterodera glycines* in soybean

Abstract -To study the penetration and migration of *Meloidogyne javanica* and *Heterodera glycines* were defined on soybean young roots cultivar Embrapa DOKO two regions characterized as: region 1- from root cap to the initial of vessel bundles-visualization including, then, the root cap, meristem and forming- new tissues, region 2- from the initial vessel bundles on. On these regions, the second stage juveniles (J2) numbers were assessed after various inoculation time periods and from J2 stored in water. The inoculation times affected, quantitatively, the *M. javanica* J2 number on regions 1 and 2 of soybean roots. Initially (24 h after inoculation) the *M. Javanica* J2s agglutinated in region1, while J2 number decreased on region 1, it increased on region 2 with J2 moving 6 mm in 3 days between the vascular bundles. Then, become evident that the *M. javanica* J2 penetrated through roots cap. Unlikely, *H. glycines* J2 was not found in region 1, and the J2 number in region 2 decreased with inoculation time. However, the majority of *H. glycines* J2 was found at 20 mm from the root cap on the side of epidermal ruptures, possibly, the J2 penetration site, from where it moved directly to central cylinder. The *M. javanica* J2 storage time of 8 days reduced the total J2 number and those found in region 2, but the distance that J2 moved in 4 days was not altered. However, all storage periods tested, reduced, drastically, the *H. glycines* J2 found in region 2. Then, the penetration sites, J2 migration and the J2 storage effects are differentials in infested soybean by *M.javanica* and *H. glycines*.

Keywords: *Meloidogyne javanica*, *Heterodera glycines*, migration.

INTRODUÇÃO

Juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne* spp. e de *Heterodera glycines* (L.) Merrill, movimentam-se no solo e são atraídos pelo exsudato radiculares até penetrarem nas raízes

Recebido em 03 de Julho de 2010, aceito em 03 de novembro de 2010.

¹ Fundação do Ensino Superior de Rio Verde, C.P. 104, CEP 75910-970, Rio Verde, GO. E-mail: campos@fesurv.br

² Universidade Federal de Lavras, C.P. 3037, CEP 37200-000 Lavras – MG. E-mail: vpcampos@ufla.br

³ Campos Carregal Pesquisa e Tecnologia Ltda CEP 75907-454, Rio Verde, GO. E-mail: carregal@fesurv.br

(KLINGER, 1965; GRIFFIN & WAITE, 1971; ENDO, 1975; YOUNG, 1992; ZHAO et al., 2000). Dentro da raiz continuam a migrar em busca do local apropriado para indução das células na formação do sítio de alimentação. Nematóides do gênero *Meloidogyne* e *Heterodera* induzem a formação de células gigantes e sincítias, respectivamente, para sua nutrição (HUSSEY & WILLIAMSON, 1998).

Os eventos relacionados à patogênese, como a migração dos J2 dentro da raiz, têm sido descritos com base em observações visuais, mas necessitam ser quantificados. De fato, WYSS & ZUNKE, (1986) e WYSS et al. (1992), sugerem, através de observações visuais, que a migração dos J2 de *M. incognita* ocorre entre os feixes vasculares, já os J2 de *Heterodera schachtii* rompem a endoderme da raiz. Apesar dessa informação, nenhum estudo foi feito até o momento objetivando-se mensurar a distância percorrida pelos J2 tanto de *Meloidogyne* spp. como *H. glycines* dentro da raiz nas cultivares brasileiras de soja.

A energia necessária para o parasitismo da planta pelo J2 é produzida e estocada durante sua ontogenia. O J2 eclode do ovo com basicamente 30% do seu corpo ocupado por lipídeo espalhado entre a base do esôfago e o final da cauda, ocupando 85% do corpo do nematóide (LEE & ATKINSON, 1977; CAMPOS et al., 2006). Esse lipídeo é utilizado como energia para a movimentação e estabelecimento do sítio de alimentação desses patógenos. Entretanto, a perda de 50% desse total impossibilita a penetração a penetração dos fitonematóides nas raízes (BERGESSON, 1959).

O retardamento da penetração e a patogenicidade do J2 podem também ser motivados por outros fatores principalmente por temperaturas elevadas (VAN GUNDY et al., 1967; REVERSAT, 1980). O efeito desse retardamento da penetração nos eventos internos da migração dos nematóides nos tecidos radiculares da soja tem merecido poucos estudos, principalmente nas cultivares brasileiras.

Objetivou-se com esse trabalho quantificar o processo de penetração e de migração dos nematóides nos tecidos radiculares internos e nas regiões da raiz por onde penetram os J2 de *M. javanica* e de *H. glycines* em função do tempo de inoculação e estocagem dos J2 desses nematóides *M. javanica* e de *H. glycines* em água.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de inóculo de *Meloidogyne javanica* e de *Heterodera glycines*

O inóculo de *M. javanica* foi multiplicado e mantido em soja *Glycines max*, cultivar EMBRAPA 20 (Doko RC), cultivada em vasos mantidos em casa-de-vegetação. Raízes galhadas foram coletadas e os ovos extraídos utilizando-se a técnica de HUSSEY & BARKER (1973). A suspensão aquosa contendo ovos foi colocada em câmara de eclosão e mantida em temperatura de $26 \pm 2^\circ \text{C}$. Os juvenis do segundo estágio J2 obtidos durante as primeiras 24 e 48 horas foram descartados e utilizados apenas os produzidos após 72 horas.

O inóculo de *H. glycines* raça 3, cuja identificação foi feita em cultivares e linhagens diferenciadoras de soja, foi obtido de plantas de soja, cultivar EMBRAPA 20 (Doko RC), inoculadas e mantidas em substrato contido em vasos de argila de x L de capacidade em casa-de-vegetação por 30 dias. Após esse período, as plantas foram retiradas dos vasos. Os sistemas radiculares foram colocados em peneira de 0,85 mm sobreposta a de 0,149 mm para onde foram direcionados jatos de água que deslocaram as fêmeas e cistos. Para obtenção dos ovos, foi utilizada a metodologia descrita por DIAS et al. (1999), em que as fêmeas e cistos foram rompidos pressionando um becker sobre eles na própria peneira de 0,149 mm, acoplada a de 0,025 mm. Os ovos foram recolhidos em peneira de 0,025 mm e submetidos a centrifugação em solução de sacarose (454 g de açúcar por litro de solução) a 2000 rpm por 1 minuto, visando separá-los das impurezas. Para obter os J2, os ovos foram colocados em câmara de eclosão e mantidos a temperatura de $26 \pm 2^\circ \text{C}$. Os J2 produzidos nas primeiras 24 e 48 horas foram descartados,

utilizando-se apenas aqueles produzidos após 72 horas.

Capacidade migratória de J2 de *M. javanica* e de *H. glycines* em raízes de soja após diferentes períodos da inoculação.

Sementes de soja cultivar Embrapa-20 (Doko RC) foram desinfestadas superficialmente com hipoclorito de sódio (1%) por 1 minuto e colocadas para germinar em bandejas contendo areia grossa umedecida e mantidas em sala climatizada a $27 \pm 2^\circ\text{C}$. Após 3 dias da semeadura, cada semente germinada com radícula de aproximadamente 2,0 cm foi transplantada para tubos de ensaio contendo 30 cm^3 de areia fina quartizífera umedecida, e previamente autoclavada a 120°C por 20 minutos. Vinte e quatro horas após, cada plântula foi inoculada com 200 J2 de *M. javanica* ou de *H. glycines* e colocadas em câmara de crescimento mantida a $27 \pm 2^\circ\text{C}$.

Após 24, 48, 72 e 96 horas da inoculação, as plântulas foram retiradas jorrando-se água nas paredes dos tubos. Os sistemas radiculares foram lavados e submetidos ao clareamento dos tecidos em hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1,5% durante 6 minutos, e enxaguados em água corrente para eliminar todo o resíduo de NaOCl. Em seguida, foram imersos em solução corante contida em tubos de ensaio. O corante foi preparado com 3,5 gramas de fucsina ácida + 250 mL de ácido láctico + 750 mL de água destilada BYBD et al. (1983) e diluída 1:29 (1 mL de solução corante inicial + 29 mL de água destilada). Em seguida, as raízes imersas no corante foram mantidas por 2 minutos em banho-maria com água em ebulição. O resfriamento total foi feito em condição ambiente durante a noite. As raízes foram lavadas para eliminar o excesso de corante e recolocadas nos tubos. Cobriram-se todas as raízes com solução de glicerina 1:1 (100 mL de glicerina pura + 100 mL de água destilada), e deixadas em repouso por, no mínimo, duas horas. Em seguida, foi feita a montagem das raízes em lâminas com glicerina pura para observação sob microscópio de objetivas invertidas. Na observação das raízes foram definidas duas regiões: 1^a) da extremidade da coifa até o início da visualização dos feixes vasculares, compreendendo então o meristema e a área com tecidos ainda não diferenciados; 2^a) a partir do início da visualização dos feixes vasculares normalmente em número de três (Figuras 1 e 3). O número de J2 presentes em cada uma dessas regiões foi quantificado e foi mensurada a distância média, em milímetros percorridos pelos nematóides a partir da coifa, no intervalo de 24 a 96 horas após inoculação.

Foi empregado o delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, utilizando-se 4 períodos de avaliação após a inoculação para cada nematóide. O número de J2 de *H. glycines* foi transformado em $\sqrt{x + 0,5}$ para a realização da análise de variância.

Efeito do tempo de armazenagem de J2 de *M. javanica* e de *H. glycines* na sua capacidade de penetração e na migração em raízes de soja.

Plântulas de soja cv. Embrapa-20 (Doko RC) foram transplantadas para tubos de ensaio contendo areia fina quartizífera, e inoculadas com 100 J2 de *M. javanica* ou de *H. glycines*, previamente armazenados por zero, 4 ou 8 dias a 28°C em água parada ou borbulhada. Em seguida, as plântulas foram transferidas para câmaras com temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$.

Aos 4 e 12 dias após a inoculação, as plântulas foram retiradas jorrando-se água nos bordos dos tubos e os sistemas radiculares lavados. Em seguida, as raízes foram submetidas ao processo de clareamento dos tecidos e coloração dos juvenis, e transferidas para lâmina de vidro com glicerina.

Quantificaram-se o número total de J2 de *M. javanica* ou de *H. glycines* por sistema radicular, número de J2 na região 1, o número de J2 que migrou para a região 2 e a distância percorrida por J2 de *M. javanica* em milímetros.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com 6 repetições, em fatorial de 3×2 , sendo 3 períodos de estocagem (0, 4 e 8 dias) em água parada ou borbulhada. Nos dois ensaios utilizou-se o programa estatístico Sisvar para a análise de variância e as médias foram

comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tempo de inoculação afetou o número de J2 de *M. javanica* nas regiões 1 e 2 (Figuras 1 e 2) da raiz de soja cultivar EMBRAPA (DOCO RC), porém *H. glycines* só se concentraram na região 2 (Figuras 3 e 4). Os J2 de *M. javanica*, após 24 h da inoculação após a inoculação, foram encontrados em maior quantidade na região 1 (Figura 1A) comparados com os períodos de 72 e 96 horas.

O número de J2 foi maior na região 2, 72 h após a inoculação e com valor total de x J2 (região 1 + região 2 = 42,86 dos J2 inoculados). HERMAN et al. (1991) observaram maior penetração de *M. incognita* em soja 4 dias após a inoculação. GOURD et al. (1993) constataram penetração de *M. javanica* em raízes de soja entre 48 e 240 horas após a inoculação. Entretanto, esses autores não avaliaram a migração. A redução do número de J2 dentro da raiz de soja 96 horas após a inoculação, neste trabalho demonstra insucesso na indução do sítio de alimentação e a emigração do J2 para o solo, o que já foi constatado em plantas de soja resistentes a *M. incognita* (HERMAN et al., 1991).

No ensaio sobre o tempo de inoculação fica evidenciada a ocorrência significativa da migração dos J2 de *M. javanica* percorrendo 6 mm entre 24 hs e 96 hs (3 dias) após a inoculação (Figuras 1B e 2). Essa migração ocorreu entre os feixes vasculares (normalmente três) onde ainda existiam células parenquimatosas paralelas aos feixes (Figura 1B). WYSS et al. (1992), supõem que a impossibilidade de J2 de *Meloidogyne* sp. em romper a endoderme com as estrias de Caspari suberificadas, obriga sua migração pelo tecido indiferenciado do meristema e posterior movimento entre os feixes internamente em relação a endoderme. Estudos posteriores devem ser feitos para avaliar-se o crescimento da raiz no momento da migração do J2 e a velocidade de lignificação dos espaços entre os feixes vasculares.

Como todos os J2 de *M. javanica* estavam paralelos ao eixo central na região 1 (feixes em formação), infere-se que a penetração ocorreu pela coifa (Figura 1A). Isso já foi observado para *M. incognita*, que é atraído pela região de crescimento de *Arabidopsis thaliana* (WYSS et al., 1992), fato também observado em várias plantas hospedeiras de *Meloidogyne* sp (HUSSEY, 1985; HUSSEY & GRUNDLER, 1998; HUSSEY & WILLIAMSON, 1998).

Diferentemente de *M. javanica*, o número de J2 de *H. glycines* decresceu de forma significativa a partir de 24h (30%) até 96h (20.5%) após a inoculação, na região 2 (Figura 4). Como J2 de *H. glycines* não foram encontrados na região 1 em nenhum período avaliado, provavelmente a coifa e tecidos circunvizinhos não são os locais de penetração de *H. glycines*. A maioria dos J2 de *H. glycines* foi encontrada a 20 mm da coifa e, lateralmente nessa região, foram observadas rupturas na epiderme da raiz, consistindo, possivelmente, no local de penetração (Figura 3). Rupturas semelhantes foram observadas em raízes de soja por HUSSEY & GRUNDLER, 1998, devido à penetração de J2 de *H. glycines*.

Não ocorreu diferença significativa entre os períodos avaliados quanto às distâncias percorridas pelos J2 de *H. glycines* (Figura 4). Portanto, esse tipo de avaliação de distância caracteriza a movimentação horizontal paralela aos feixes vasculares, o que não ocorre com J2 de *H. glycines*. Os J2 de *H. glycines* apenas se movimentam obliquamente (em relação aos feixes) a partir do local da penetração, ou seja, da epiderme até próximo do cilindro central (Figura 3). Segundo WYSS et al. (1992) os J2 de *H. glycines* rompem a endoderme e chega às primeiras camadas do floema, transversalmente a raiz.

O tempo de estocagem de *M. javanica* e *H. glycines* afetou diferentemente o número de J2 que penetrou nas raízes e a distância de migração do J2 de *M. javanica* (Tabelas 1 e 2). Entretanto, não ocorreu interação significativa entre os fatores período de inoculação e água parada ou borbulhada

tanto para *M. javanica* como *H. glycines*. A estocagem de J2 de *M. javanica* em água por 8 dias reduziu o número total de J2 e o número de J2 na região 2 avaliadas tanto aos 4 quanto aos 12 dias após a inoculação, o que se deve, provavelmente, à redução da infectividade, mobilidade e perda da energia corporal (FREIRE et al., 2007; THOMASON et al., 1964; REVERSAT, 1980).

Como as avaliações, neste trabalho, foram feitas aos 4 e 12 dias após a inoculação, das plantas com os nematóides, o número de J2 de *M. javanica* na região 2 foi sempre maior comparado com a região 1 (Tabela 1), conforme discutido anteriormente no ensaio sobre tempo de inoculação. Contudo, o tempo de estocagem não alterou ($P \leq 0.05$) a distância percorrida pelos J2 em 4 dias, mas diferiu entre os J2 sem estocagem e estocados por 8 dias (Tabela 1). Qualquer dos períodos de estocagem reduziu ($P \leq 0.05$) drasticamente o número de J2 total de *H. glycines* e os observados na região 2. Semelhante ao que ocorreu no experimento sobre tempo de inoculação, na região 1 não se observou J2 de *H. glycines* (Tabela 2). Já foi observado que os J2 de *Heterodera oryzae* e de *Globodera rostochiensis* estocados em água tiveram redução considerável na infectividade em arroz e tomate, respectivamente (REVERSAT, 1980; STOREY, 1984).

Nos aspectos quantitativos, a penetração e migração de J2 de *M. javanica* e de *H. glycines* em raízes de soja cultivar EMBRAPA DOKO foram diferenciados tanto nos J2 recentemente eclodidos como nos estocados por algum tempo antes da inoculação.

CONCLUSÕES

O tempo de inoculação afeta a migração dos juvenis do segundo estágio (J2) de *M. javanica* da região meristemática para os feixes vasculares, mas não de *H. glycines*. Pelos feixes vasculares de soja, o J2 de *M. javanica* percorre 6 mm em 3 dias. *H. glycines* penetra a 20 mm da coifa. O tempo de estocagem de J2 de *M. javanica* e de *H. glycines* por 8 dias diminui o número de J2 nos feixes vasculares.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro através de bolsa de apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- BERGERSON, G.B. The influence of temperature on the survival of some species of the genus *Meloidogyne*, in the absence of a host. **Nematologica**, v. 4, p. 344-354, 1959.
- BYBD, D.W.Jr.; KIRKPATRICK, T.; BARKER, K.R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes, **Journal of Nematology**, v.15, n.1, p.142-143, 1983.
- CAMPOS, H.D.; CAMPOS, V.P.; POZZA, E.A. Efeito do tempo e da temperatura de incubação de juvenis de segundo estágio (J2) no teor de lipídeo corporal, na penetração, no número de fêmeas e na reprodução de *Meloidogyne javanica* em soja. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, n.4, p 387-394, 2006.
- DIAS, W.P.; SILVA, J.F. V.; WAIN, L.A.; PEREIRA, J.F. Distribuição de raças de *Heterodera glycines* no Brasil. In: Sociedade Brasileira de Nematologia (Ed.). **O nematóide de Cisto da soja: A experiência Brasileira**. Jaboticabal, Artsinger Editores, 1999. p. 95-103.
- ENDO, B.Y. Pathogenesis of nematode-infected plants. **Annual Review of Phytopathology**, v.13, p.213-238, 1975.
- FREIRE, E.S.; CAMPOS, V.P.; DUTRA, M.R.; SILVA, J.R.C.; POZZA, E.A. Infectividade de juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne incognita* em tomateiro após a privação alimentar em solo e água em diferentes condições. **Summa Phytopathologica**, v.33, n.3, p 270-274, 2007.

- GOURD, T.R.; SCHMITT, D.P.; BARKER, K.R. Penetration rates by second-stage juveniles of *Meloidogyne* spp. and *Heterodera glycines* into soybean roots. **Journal of Nematology**, v.25, n.1, p.38-41, 1993.
- GRIFFIN, G.D.; WAITE, W.W. Attraction of *Ditylenchus dipsaci* and *Meloidogyne hapla* by resistant and susceptible alfalfa seedlings. **Journal of Nematology**, v.3, n.3, p.215-219, 1971.
- HERMAN, M.; HUSSEY, R.S.; BOERMA, H.R. Penetration and development of *Meloidogyne incognita* on roots of resistant soybean genotypes. **Journal of Nematology**, v.23, n.2, p.155-161, 1991.
- HUSSEY, R.S. Host-parasite relationships and associated physiological changes. In: SASSER, J. N. & CARTER, C. C. **An advanced treatise on Meloidogyne**. Vol. I Biology and control, 1985. 422p.
- HUSSEY, R.S.; BARKER, K.R. A comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Planta disease Report**, v.57, n.12, p.1025-1128, 1973.
- HUSSEY, R.S.; GRUNDLER, F.M.W. Nematode parasitism of lant. In: PERRY, R.N.; WRIGHT, D.J. **The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes**. New York: CABI, 1998. p.213-244.
- HUSSEY, R.S.; WILLIAMSON, V.M. Physiology and aspects of nematode parasitism. In: BARKER, K.R.; PEDERSON, G.A.; WINDHAM, G.L. **Plant and nematode interactions**. Hardcover: American Society of agronomy, 1998. p.87-108.
- LEE, D.L, ATKINSON, H.J. **Physiology of nematodes**. Columbia University Press: 1997. 215p.
- KLINGLER, J. On the orientation of plant nematodes and of some other soil animals. **Nematologica**, v.11, n.1, p.4-18, 1965.
- RESERSAT, G. Consumption of food reserves by starved second-stage juveniles of *Meloidogyne javanica* under conditions inducing osmobiogenesis. **Nematologica**, v.27, p.207-214, 1981.
- REVERSAT, G. Effect of vitro storage time on the physiology of second stage juveniles of *Heterodera oryzae*. **Revue Nematologie**, v.3, n.2, p.233-241, 1980.
- STOREY, R. M. J. The relationship between neutral lipid reserves and infectivity for hatchad and dormant juveniles of *Globodera* spp. **Annals of applied Biology**, v.104, p.511-520, 1984.
- THOMASON, I.J.; VAN GUNDY, S.D.; KIRKPATRICK, J.D. Motility and infectivity of *Meloidogyne javanica* as affected by storage time and temperature in water. **Phytopathology**, v.54, p.192-195, 1964.
- VAN GUNDY, S.D.; BIRD, A.F.; WALLACE, H.R. Ageing and starvation in larvae of *Meloidogyne javanica* and *Tylenchulus semipenetrans*. **Phytopathology**, v.57, p.559-571, 1967.
- WYSS, U.; GRUNDLER, F.M.W.; MUNCH, A. The parasitic behaviour of second stage juveniles of *Meloidogyne incognita* in roots of *Arabidopsis thaliana*. **Nematologica**, v.38, p.98, 1992.
- WYSS, U.; ZUNKE, U. Observations on the behaviour of second stage juveniles of *Heterodera schachtii* inside host roots. **Revue Nematologie**, v.9, n.2, p.153-165, 1986.
- YOUNG, L. D. Epiphytology and life cycle. In: RIGGS, E. D. & WRATHER, J. A. (Eds.) **Biology and management of the soybean cyst nematode**. St. Paul, APS, 1992. p.27-36
- ZHAO, X.; SCHMITT, M.; HAWES, M.C. Species-dependent effects of border cell and root tip exudates on nematodes behavior. **Phytopathology**, v.90, n.11, p.1239-1245, 2000.

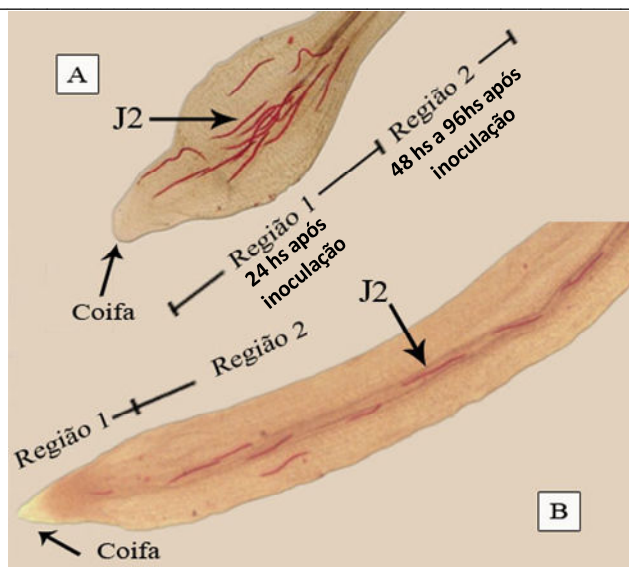


Figura 1. Eventos iniciais do parasitismo de *Meloidogyne javanica* (*Mj*) em raízes de soja em microscópio óptico em aumento de 30 vezes. A) penetração pela coifa e concentração de juvenis de segundo estágio (J2) de *Mj* na região meristemática e de tecidos indiferenciados – região 1 (24hs após inoculação); B) migração dos J2 ao longo do cilindro vascular (região central mais escura) – região 2 (48hs a 96hs após inoculação).

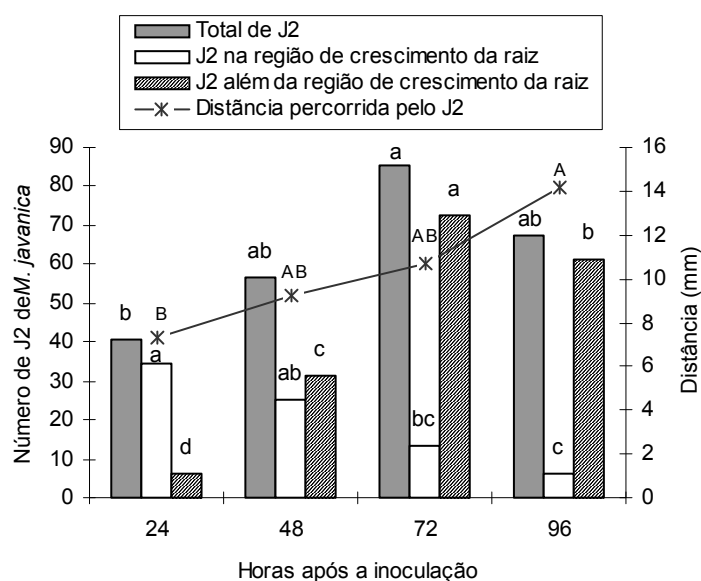


Figura 2. Número total de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* (*Mj*), J2 observados na região de crescimento de raízes de soja e aqueles migrados além dessa região, a partir da coifa, após 24, 48, 72 e 96 horas da inoculação. Barras de mesma tonalidade e pontos da linha seguidos pela mesma letra indicam que não houve diferença significativa entre as médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

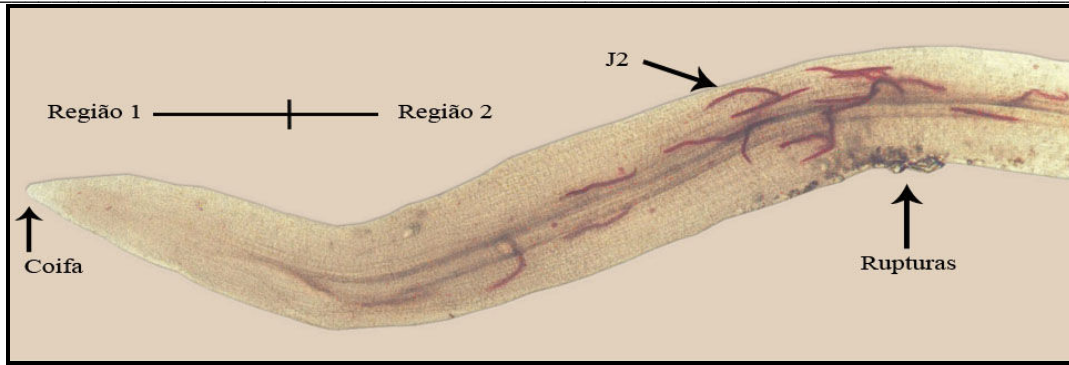


Figura 3. Eventos iniciais do parasitismo de *Heterodera glycines* em raízes de soja. Região 1-Da extremidade da coifa até os feixes vasculares visíveis (região central mais escura) em microscópio óptico (aumento de 30 vezes): Região 2- início dos feixes vasculares visíveis (região central mais escura). A penetração de juvenis do segundo estágio (J2) foi observada apenas na região 2, sendo o local de maior concentração de J2 a 20 mm da coifa. Foram observadas rupturas nas raízes.

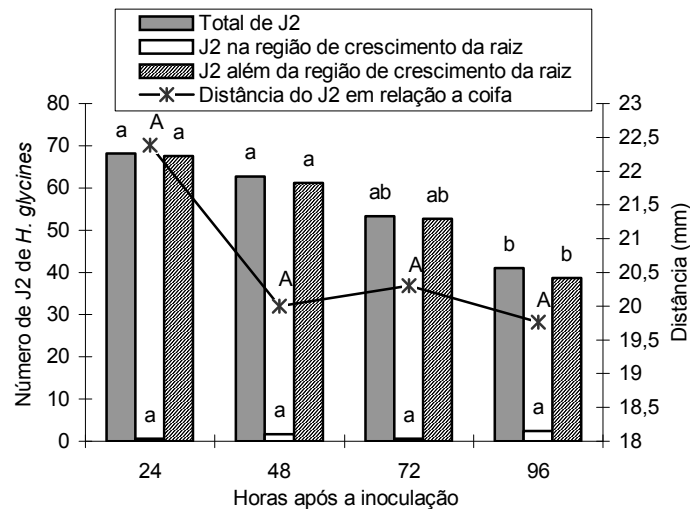


Figura 4. Número total de juvenis de segundo estágio (J2) de *Heterodera glycines*, J2 observados na região de crescimento e aqueles além dessa região a partir da coifa, após 24, 48, 72 e 96 horas da inoculação. Barras de mesma tonalidade e pontos da linha seguidos pela mesma letra indicam que não houve diferença significativa entre as médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 1. Efeito do período de armazenamento em água dos juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* na capacidade de penetração e migração em raiz de soja aos 4 e 12 dias após a inoculação. Região 1- Da extremidade da coifa até os feixes vasculares visíveis; Região 2- início dos feixes vasculares visíveis. Os J2 presentes nas regiões 1 e 2 são representados por J2 R1 e J2 R2, respectivamente. O total de J2 e a distância por eles percorrida em mm são indicados por D J2.

Período de incubação	Tempo de avaliação após a inoculação das raízes com os J2 (dias)							
	4				12			
D e J2 (dias)	Total J2	J2 R1	J2 R2	D J2	Total J2	J2 R1	J2 R2	D J2
0	55,83 a	8,67 c	47,50 a	10,01a	71,58 a	3,67 a	67,92 a	23,32 a
4	58,17 a	24,17 a	33,17 b	12,98a	65,42 a	5,00 a	60,42 a	19,64ab
8	41,33 b	13,17 b	28,17 b	11,09a	46,92 b	2,58 a	44,33 b	16,34 b

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Região 1 = meristemática com tecidos indiferenciados. Região 2 = início dos feixes vasculares visíveis.

Tabela 2. Efeito do período de armazenamento dos juvenis do segundo estágio (J2) de *Heterodera glycines* em água na sua capacidade de penetração em raiz de soja aos 4 e 12 dias após a inoculação. Região 1- Da extremidade da coifa até os feixes vasculares visíveis; Região 2- início dos feixes vasculares visíveis. Os J2 presentes nas regiões 1 e 2 são representados por J2 R1 e J2 R2, respectivamente. O total de J2 e a distância por eles percorrida em mm são indicados por D J2.

Período de incubação	Tempo de avaliação após inoculação das raízes com os J2 (dias)					
	4			12		
de J2 (dias)	Total J2	J2 R1	J2 R2	Total J2	J2 R1	J2 R2
0	21,83 a	0	21,83 a	36,50 a	0	36,50 a
4	2,42 b	0	2,42 b	2,08 b	0	2,08 b
8	2,67 b	0	2,67 b	1,83 b	0	1,83 b

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Região 1 = meristemática com tecidos indiferenciados. Região 2 = início dos feixes vasculares visíveis.