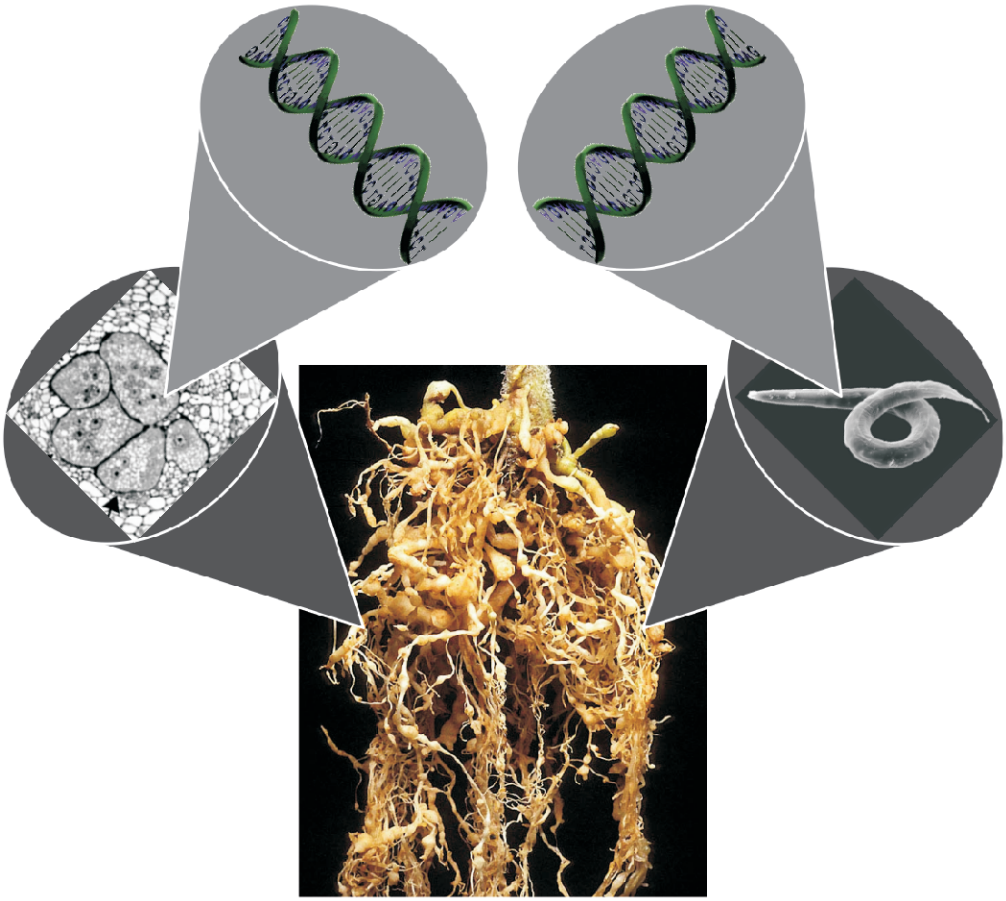
Documentos

ISSN 1517 - 5111
Dezembro, 2007
198

Interação Molecular Planta-Nematóide



Embrapa

ISSN 1517-5111
Dezembro, 2007

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Cerrados
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Documentos 198

Interação Molecular Planta-Nematóide

Rodrigo da Rocha Fragoso
Isabela Tristan Lourenço
Antônio Américo Barbosa Viana
Djair dos Santos de Lima Souza
Rosângela Vieira de Andrade
Angela Mehta
Ana Cristina Miranda Brasileiro
Eduardo Romano de Campos Pinto
Liziane Maria de Lima
Thales Lima Rocha
Maria Fátima Grossi de Sa

Embrapa Cerrados
Planaltina, DF
2007

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Cerrados
BR 020, Km 18, Rod. Brasília/Fortaleza
Caixa Postal 08223
CEP 73310-970 Planaltina, DF
Fone: (61) 3388-9898
Fax: (61) 3388-9879
http://www.cpac.embrapa.br
sac@cpac.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade
Presidente: *José de Ribamar N. dos Anjos*
Secretário-Executivo: *Maria Edilva Nogueira*

Supervisão editorial: *Fernanda Vidigal Cabral de Miranda*
Revisão de texto: *Francisca Elijani do Nascimento*
Normalização bibliográfica: *Marilaine Shaun Pelufê*
Tratamento de ilustrações: *Leila Sandra Gomes Alencar*
Editoração eletrônica: *Leila Sandra Gomes Alencar*
Capa: *Leila Sandra Gomes Alencar*
Impressão e acabamento: *Divino Batista de Sousa*
Jaime Arbués Carneiro

Impresso no Serviço Gráfico da Embrapa Cerrados

1ª edição
1ª impressão (2007): tiragem 100 exemplares

Todos os direitos reservados
A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Cerrados

I61 Interação molecular planta-nematóide / Rodrigo da Rocha Fragoso ... [et al.]. – Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2007.
56 p.— (Documentos / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111 ; 198)

1. Genética vegetal. 2. Nematóide - controle. 3. Resistência genética. I. Fragoso, Rodrigo da Rocha. II. Série.

581.35 - CDD 21

© Embrapa 2007

Autores

Rodrigo da Rocha Fragoso
Eng. Agrôn. e Biól., Ph.D.
Pesquisador, Embrapa Cerrados
rodrigo.fragoso@cpac.embrapa.br

Isabela Tristan Lourenço
Biól., Universidade de Brasília
isabelatl@cenargen.embrapa.br

Antônio Américo Barbosa Viana
Biól., M.Sc.
University of Massachusetts, Amherst, MA, USA
aamerico@gmail.com

Djair dos Santos de Lima Souza
Biól., M.Sc.
Universidade de Brasília
djairsouza@yahoo.com.br

Rosângela Vieira de Andrade
Biól., Ph.D., Bolsista CNPq, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasilia, DF
rvieira@unb.br

Angela Mehta dos Reis
Biól., Ph.D.
Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasilia, DF
amehta@cenargen.embrapa.br

Ana Cristina Miranda Brasileiro
Eng. Flor., Ph.D, Pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF
brasileiro@cenargen.embrapa.br

Eduardo Romano de Campos Pinto
Biól., Ph.D.
Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasilia, DF
romano@cenargen.embrapa.br

Liziane Maria de Lima
Biól., Ph.D.
Embrapa Algodão, Campina Grande, PB
liziane@cnpa.embrapa.br

Thales Lima Rocha
Biól., Ph.D.
Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasilia, DF
thales@cenargen.embrapa.br

Maria Fátima Grossi de Sa
Bioméd., Ph.D.
Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasilia, DF
fatimasa@cenargen.embrapa.br

Apresentação

Os fitonematóides endoparasitas sedentários são um dos principais fitopatógenos da agricultura mundial. Milhares de culturas sofrem o ataque desses microrganismos, levando a grandes perdas econômicas. No Brasil, já foram registradas aproximadamente 100 espécies de nematóides associados à cerca de 600 espécies de plantas. Práticas agronômicas, como rotação de cultura, aplicação de nematicidas e controle biológico, têm sido aplicadas no controle de nematóides, porém com baixa eficiência em muitos casos. Dadas as limitações atuais, um grande empenho tem sido aplicado no estudo da interação molecular planta-nematóide, objetivando compreender esse patossistema e sugerir alternativas eficientes para o controle desses parasitas. O plantio de variedades geneticamente resistentes tem sido a melhor forma de controle, porém essa estratégia é dependente da existência e mapeamento de genes de resistência naturais, em geral, desencadeadores da reação de hipersensibilidade, para posterior melhoramento genético, limitado a plantas evolutivamente próximas. Outro mecanismo de resistência genética considerado é a produção e acúmulo de metabólitos secundários com atividade antimicrobiana, nematicida e inseticida. Centenas de genes de células vegetais diferencialmente expressos quando em contato com nematóides já foram caracterizados, contribuindo para a compreensão desse patossistema em nível molecular. Além das várias técnicas que vêm sendo utilizadas para o estudo da interação planta-patógeno, pesquisas recentes com inibição da expressão

de genes de nematóides, usando o silenciamento gênico por RNA interferente, têm demonstrado o grande potencial das plantas transgênicas resistentes a esses fitonematóides.

Esta revisão bibliográfica sobre a interação molecular planta-nematóide reflete o interesse de pesquisadores do mundo inteiro em buscar alternativas viáveis para o controle desses fitopatógenos que assolam plantações distribuídas por todos os continentes. Apesar dos grandes avanços da pesquisa nessa área, ainda são necessários estudos para compreender os mecanismos de parasitismo e descobrir meios de intervenção do parasitimo, objetivando minimizar os danos causados em várias culturas pelo mundo afora.

Roberto Teixeira Alves
Chefe-Geral da Embrapa Cerrados

Sumário

Introdução 9
Interação molecular planta-nematóide incompatível 10
Metabólitos secundários com atividade antinematóide 12
Genes de resistência a nematóide 14
Interação molecular planta-nematóide compatível 19
Genes de parasitismo do nematóide 20
Genes de plantas hospedeiras diferencialmente expressos 27
Estratégias moleculares de validação funcional de genes e de controle de fitonematóides 33
Considerações finais 36
Referências 37
Abstract 54

Interação Molecular Planta-Nematóide

Rodrigo da Rocha Fragoso; Isabela Tristan Lourenço;
Antônio Américo Barbosa Viana; Djair dos Santos de Lima Souza;
Rosângela Vieira de Andrade; Angela Mehta dos Reis;
Ana Cristina Miranda Brasileiro; Eduardo Romano de Campos Pinto;
Liziane Maria de Lima; Thales Lima Rocha; Maria Fátima Grossi de Sa

Introdução

Os nematóides são extremamente abundantes, representando 80 % dos indivíduos do reino Animalia (PLATT, 1999), e extensivamente diversificados, com estimativas de 100 mil a um milhão de espécies compondo o filo Nematoda (DE LEY; BLAXTER, 2002). Apesar de sua estrutura anatômica relativamente simples, como de um tubo dentro de outro, eles exibem uma excelente adaptabilidade aos mais diferentes nichos ecológicos. A grande maioria dos nematóides é de vida-livre, alimentando-se de bactérias, protistas, fungos ou nematóides. Contudo, algumas centenas de espécies são de grande importância para o ser humano, pois parasitam animais (vertebrados ou invertebrados) ou plantas (PARKINSON et al., 2004; SCHOLL; BIRD, 2005).

Os fitonematóides endoparasitas sedentários, divididos em três gêneros *Globodera*, *Heterodera* (ambos nematóides formadores de cisto, NFC) e *Meloidogyne* (nematóides formadores de galha, NFG), são os patógenos mais danosos para várias culturas pelo mundo afora (SASSER, 1980), representando perdas na agricultura mundial de US$ 125 bilhões anualmente (CHITWOOD, 2003). As perdas mundiais provocadas por NFG em culturas como algodão, café e cana-de-açúcar atingem patamares de US$ 4,1 bilhões, US$ 2,6 bilhões e US$ 16,5 bilhões por ano, respectivamente (VEECH; DICKSON, 1997). Dentre os NFG, *Meloidogyne incognita*, em virtude da sua distribuição mundial (SASSER et al., 1983;

TRUDGILL, 1995), reprodução apomítica e vasta gama de plantas hospedeiras (EHWAETI et al., 1999; JEPSON, 1987), é provavelmente o patógeno de plantas cultivadas mais importante (TRUDGILL; BLOK, 2001).

O ciclo de vida de nematóides consiste de seis estádios fenológicos: ovo, quatro larvais (juvenis) e adulto (Fig. 1). A larva de segundo estádio (L2 ou juvenil J2), fase infectiva, penetra na raiz da planta hospedeira e migra pelo cilindro vascular, via força mecânica do estilete e degradação enzimática da parede celular e lamela média, para formação do sítio de alimentação, resultante da modificação de células vegetais para que funcionem como dreno de nutrientes para o fitopatógeno (GHEYSEN; FENOLL, 2002; VAN DER EYCKEN et al., 1996). Após sucessivas ecdises, a larva L2 se diferencia em L3 e L4, assumindo uma forma salsichóide. Quando em condições de parasitismo desfavoráveis, o L4 se diferencia em macho adulto, vermiforme e abandona o hospedeiro. Por outro lado, quando a interação molecular planta-nematóide (IMPN) é favorável, ocorre diferenciação do L4 em fêmea adulta, com forma de pêra, que completa seu ciclo de vida, geralmente em menos de um mês, ao depositar em torno de 2.000 ovos (WILLIAMSON; GLEASON, 2003).

Interação molecular planta-nematóide incompatível

Existem milhares de espécies de plantas parasitadas por nematóides, entretanto algumas significativas exceções têm sido descritas. Essas plantas evoluíram mecanismos protetores que previnem a atração, penetração, migração, formação do sítio de alimentação, nutrição, reprodução ou sobrevivência dos nematóides. De maneira geral, essas plantas são classificadas em plantas antagonistas, armadilhas, não-hospedeiras ou resistentes, uma vez que a IMPN é parcialmente ou totalmente incompatível.

A princípio, plantas antagonistas são aquelas que secretam substâncias nematicidas no solo e contribuem para a diminuição da população de nematóides. A natureza dessas substâncias tem sido discutida, e alguns pesquisadores acreditam que sejam derivadas da síntese de metabólitos secundários, ou seja, de natureza não-protéica, como terpenos ou alcalóides.

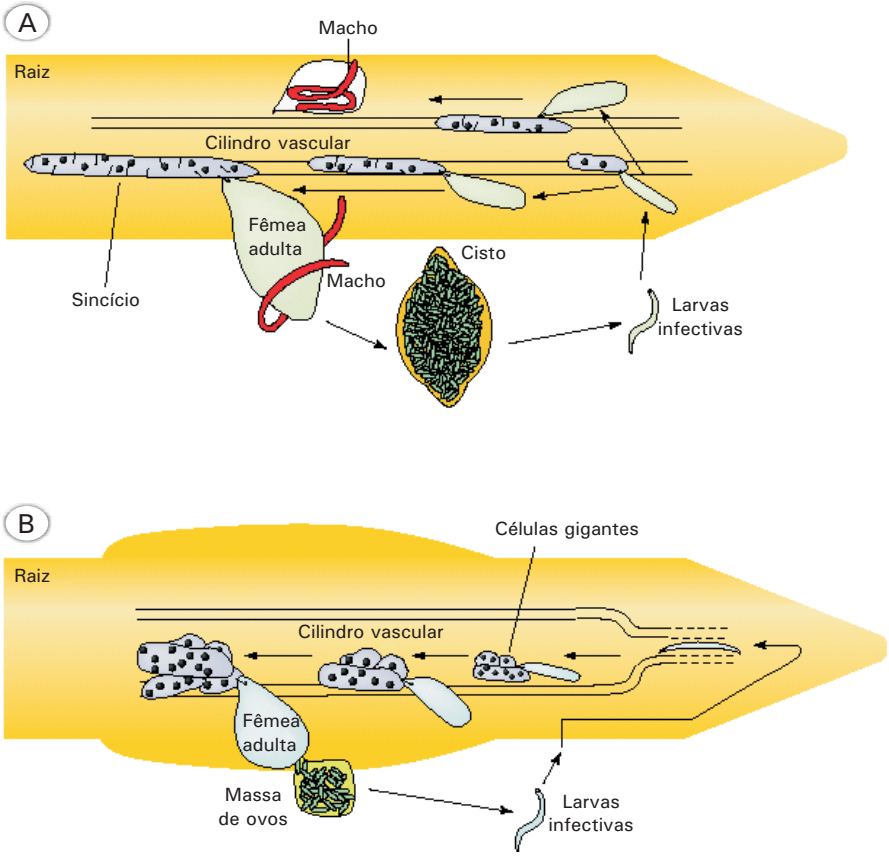


Fig. 1. Ciclo de vida de fitonematóides endoparasitas sedentários. Em virtude da íntima e sofisticada interação molecular planta-nematóide, os endoparasitas sedentários habitam o hospedeiro interna e permanentemente. (A) Larvas L2 de nematóides formadores de cisto migram através de células vegetais rompidas mecanicamente e digeridas enzimaticamente, ao atingirem o cilindro vascular, rompem as células vizinhas para formação do sincício. As fêmeas sedentárias se transformam nos cistos, estrutura protetora dos ovos com alta persistência no solo. (B) Larvas L2 de nematóides formadores de galha migram entre as células vegetais, facilitadas pela digestão da lamela média, e modificam a fisiologia celular para a formação de células gigantes e galhas. As fêmeas adultas depositam seus ovos em massa protéica. Figura original de Williamson e Gleason (2003).

Plantas armadilhas também apresentam a capacidade de matar os nematóides, mas, além disso, suas raízes são atrativas para os nematóides. Funcionam como armadilhas, pois atraem as larvas L2 infectivas, mas não permitem o estabelecimento do parasitismo e a continuidade do ciclo de vida. Geralmente, plantas antagonistas e armadilhas não têm valor econômico direto, apenas indireto por aumentarem a produtividade da planta de interesse que é semeada em consórcio ou em rotação de cultura.

Plantas não-hospedeiras não liberam exudados atrativos no solo, ao contrário liberam repelentes, de forma que os nematóides não migram em sua direção e não tentam estabelecer parasitismo.

Por outro lado, as plantas resistentes são invadidas pelos nematóides, mas o parasitismo não é estabelecido devido a mecanismos de resistência espacial, temporal e funcionalmente distintos conforme cada caso (TRUDGILL; BLOK, 2001). Plantas resistentes e seus patógenos operam, muitas vezes, num sistema de interação gene-a-gene. Assim, o patógeno pode apresentar um gene de avirulência, cujo produto avisa sua presença à planta. No entanto, a planta pode apresentar um gene de resistência, cujo produto detecta o patógeno e desencadeia uma resposta hipersensitiva. Para que de fato ocorra resistência, cada qual deve possuir o gene de avirulência e o de resistência.

A interação molecular planta-nematóide é incompatível quando a planta evolui mecanismos bioquímicos de defesa, comumente relacionados à síntese de metabólitos secundários ou à presença de genes de resistência.

Metabólitos secundários com atividade antinematóide

Os metabólitos são biomoléculas menores que as macromoléculas (proteína, carboidrato, lipídeo e ácido nucléico) em tamanho, mas não em importância (DIXON, 2001). Os metabólitos têm funções muito diversificadas, conforme o tipo de interação que realiza com as macromoléculas (HALL, 2006). Eles podem atuar como ativadores ou inibidores alostéricos de uma determinada enzima, ou podem ser os substratos, produtos intermediários ou resíduos nas inúmeras vias metabólicas (DEMAIN; VAISHNAV, 2006; ENGEL et al., 2002).

Os metabólitos são divididos em dois grandes grupos: os metabólitos primários e os secundários. Os primários são aqueles que estão diretamente envolvidos nas rotas de síntese e degradação das macromoléculas, sendo normalmente encontrados em todos os seres vivos (DIXON, 2001). Já, os secundários são moléculas que geralmente não estão envolvidas em funções vitais e geralmente não fazem parte do metabolismo básico (HALL, 2006). Os metabólitos secundários possuem características químicas muito variadas e, às vezes, complexas e são agrupados como alcalóides, terpenos, taninos, flavonóides e glicosídeos (HALL, 2006).

Durante muito tempo, acreditou-se que os metabólitos secundários fossem produzidos sem uma função biológica específica, simplesmente como produtos finais das reações, ou até mesmo como anomalias metabólicas (MARASCHIN; VERPOORTE, 1999). Essa visão mudou radicalmente, e várias funções biológicas importantes têm sido descritas, como sua utilidade para o desenvolvimento fisiológico das plantas e seu papel como mediadores das interações entre as plantas e outros organismos (NEWMAN et al., 2003; TAIZ; ZEIGER, 2002; ZHANG et al., 2002). Comumente encontrados em plantas e fungos (CHALLIS; HOPWOOD, 2003), os metabólitos secundários estão relacionados a componentes estruturais e mecanismo de defesa contra herbívoros e patógenos, são atrativos para polinizadores e agentes nas interações interespecíficas, como a alelopatia (ENGEL et al., 2002).

Muitas moléculas efetivas no controle de insetos-praga têm sido relatadas. Essas moléculas são chamadas de inseticidas de origem natural. Dentre as substâncias mais utilizadas para esse fim, destacam-se os semioquímicos (feromônios ou aleloquímicos) produzidos pelos próprios insetos e diversos compostos de origem vegetal (alcalóides, rotenóides, limonóides, piretrinas, entre outros). Esses compostos podem confundir os insetos, ou mesmo causar a sua morte, tendo a vantagem de ser geralmente bastante específicos (FERREIRA et al., 2001). Entretanto, apesar do grande número de trabalhos publicados indicando a atividade de diversos extratos, pouco se sabe a respeito das biomoléculas atuantes, muito menos sobre o seu mecanismo de ação (AMARAL et al., 2002; CHITWOOD, 2002; INSUNZA et al., 2001; MOLAN et al., 2000).

Trabalhos sobre a ação de extratos de sementes de plantas antagonistas demonstraram um efeito nematicida (provoca a morte) e nematostático (inibe temporariamente o desenvolvimento) bastante efetivo (WALLA et al., 1999). Esses efeitos têm sido relacionados à presença de lectinas e metabólitos secundários, tais como alcalóides, terpenos, taninos, flavonóides ou glicosídeos (MOLAN et al., 2000). As lectinas têm sido associadas ao bloqueio de quimiorreceptores do nematóide, dificultando tanto a motilidade quanto a localização da planta por parte do parasita (MARBAN-MENDONZA et al., 1987). O conteúdo de nicotina em plantas de tabaco aumenta, especialmente nas resistentes, quando ocorre infecção por *M. incognita*, a níveis que afetam a mobilidade de larvas L2 in vitro (DAVIS; RICH, 1987). O algodoeiro produz o gossypol, que confere resistência a algumas raças de *M. incognita* (PAGE; BRIDGE, 1994), e variedades resistentes apresentam maior concentração desse produto, tóxico para larvas (VEECH, 1982).

A grande biodiversidade de biomas brasileiros, como o Cerrado e a Amazônia, representa um campo muito vasto para o estudo desses metabólitos secundários bioativos, a geração de bancos de substâncias vegetais e a determinação de funcionalidade antinematóide, antimicrobiana ou inseticida (ROCHA et al., 2006).

Genes de resistência a nematóide

A resposta hipersensitiva é um mecanismo bioquímico pós-formado de defesa, caracterizado pela morte de células do hospedeiro próximas aos patógenos biotróficos, o que resulta na interrupção da infecção patogênica e na conseqüente resistência da planta à doença. A indução da resposta de hipersensibilidade tem sido associada à interação molecular específica entre uma proteína de avirulência do patógeno, que sinaliza sua presença para a planta, com uma proteína de resistência que faz a ligação de reconhecimento proteína-proteína e desencadeia a resposta hipersensitiva (BAKER et al., 1997; PARKER et al., 2000), conhecida como hipótese de resistência gene-a-gene. Cada espécie de planta contém centenas, talvez milhares de genes de resistência (*R*) (YOUNG, 2000), cada qual específico para determinado microrganismo (WHITE et al., 2000). Novas evidências indicam que os genes *R* apresentam uma grande complexidade, numa nova hipótese de resistência gene-a-genoma (MITCHELL-OLDS; BERGELSON, 2000).

Nas plantas, diferentes estresses bióticos e abióticos recrutam proteínas comuns, executoras do intrincado processo hipersensitivo. Apesar de os genes *R* conferirem resistência a inúmeros patógenos não relacionados, como bactérias, fungos, vírus e nematóides, seus produtos protéicos compartilham estruturas similares de reconhecimento e de sinalização (BAKER et al., 1997). A região rica em leucinas ("leucine-rich region", LRR) parece estar envolvida na interação proteína-proteína, e o sítio de ligação a nucleotídeos ("nucleotide binding site", NBS) com a sinalização intracelular. Na verdade, os genes *R* são membros de famílias multigênicas, organizadas em regiões cromossômicas relacionadas. A quantidade desses genes é enorme e representa a capacidade da planta em perceber o patógeno, de modo que as plantas são selecionadas evolutivamente para manter muitos genes *R*. Entretanto, não bastaria quantidade, mas variabilidade. Assim, existem mecanismos genéticos para gerar diversidade nos genes *R*, de forma mais rápida e eficiente que mutações pontuais e aleatórias, como a recombinação desigual e a conversão gênica. Os genes *R* estão no topo da cascata de sinalização celular, que culmina em morte das células, e não atuam de forma independente. Assim, um determinado gene *R* não será funcional quando inserido em plantas evolutivamente distantes.

Vários genes *R* já foram mapeados (15) ou clonados (10) em plantas resistentes a nematóides (Tabela 1). Provavelmente, alguns desses genes *R* específicos para nematóides evoluíram em solanáceas ancestrais do tomateiro, batateiro e pimenteiro, devido à homologia gênica encontrada. Estratégias moleculares aplicadas ao estudo de plantas infectadas com fitonematóides têm revelado vários genes *R* naturais para nematóides (WILLIAMSON; KUMAR, 2006). A maioria desses genes age com alta especificidade a espécies ou patótipos de fitonematóides e, por isso, têm uso restrito visando à transgenia, ou mesmo visando ao melhoramento genético clássico. Como exemplo, o gene *Mi-1*, isolado de tomateiro, confere resistência específica a NFG (MILLIGAN et al., 1998; SEAH et al., 2004; VOS et al., 1998), *Gpa2* a populações de *Globodera pallida* (VAN DER VOSSEN et al., 2000) e $Hs1^{pro-1}$ a *Heterodera schachtii* (CAI et al., 1997; THURAU et al., 2003).

Tabela 1. Genes de resistência de planta descritos em interações planta-nematóide incompatíveis.

Gene *R*	Planta	Fitopatógeno	# Acesso	Referência
Me1 e *3*	Pimenteiro (*Capsium annuum*)	NFG (*Meloidogyne incognita*)	não isolado	(HENDY et al., 1985a)
Me2, 4 e *5*	Pimenteiro (*Capsium annuum*)	NFG (*Meloidogyne incognita*)	não isolado	(HENDY et al., 1985b)
Ma1-2	Ameixeira (*Prunus cerasifera*)	NFG (*Meloidogyne* spp.)	não isolado	(ESMENJAUD et al., 1996)
Hs1^{pro-1}	Batata doce (*Beta procumbens*)	NFC (*Heterodera schachtii*)	DQ148271	(CAI et al., 1997)
Cre3	Trigo (*Triticum aestivum*)	NFC (*Heterodera avenae*)	AJ420959	(LAGUDAH et al., 1997)
Ma3	Ameixeira (*Prunus cerasifera*)	NFG (*Meloidogyne* spp.)	não isolado	(RUBIO-CABETAS et al., 1998)
Mi-1.2	Tomateiro (*Lycopersicon peruvianum*)	NFG (*Meloidogyne* spp.)	AF039682	(MILLIGAN et al., 1998; VOS et al., 1998)
Mi-1.2	Tomateiro (*Lycopersicon peruvianum*)	Afídeo (*Macrosiphum euphorbiae*)	AF039682	(ROSSI et al., 1998; VOS et al., 1998)
Me1 e *3*	Pimenteiro (*Capsium annuum*)	NFG (*Meloidogyne incognita*)	não isolado	(BLEVE-ZACHEO et al., 1998)
Mi-5	Tomateiro (*Lycopersicon esculentum*)	NFG (*Meloidogyne* spp.)	não isolado	(VEREMIS et al., 1999)
Rmc1	Batateiro (*Solanum tuberosum*)	NFG (*M. chitwoodi, M. fallax* e *M. hapla*)	não isolado	(VAN DER VOORT et al., 1999)
Gpa2	Batateiro (*Solanum tuberosum*)	NFC (*Globodera pallida*)	AJ249449	(VAN DER VOSSEN et al., 2000)
Rgh 1 e *4*	Soja (*Glycines max*)	NFC (*Heterodera glycines*)	AF506517-8	(MEKSEM et al., 2001)
Me3 e *4*	Pimenteiro (*Capsium annuum*)	NFG (*Meloidogyne* spp.)	não isolado	(DJIAN-CAPORALINO et al., 2001)
Hero	Tomateiro (*Lycopersicon esculentum*)	NFC (*G. rostochiensis* e *G. pallida*)	CAD29725	(ERNST et al., 2002)
MIC-3	Algodoeiro (*Gossypium hirsutum*)	NFG (*Meloidogyne incognita*)	AY072782	(ZHANG et al., 2002)

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Gene *R*	Planta	Fitopatógeno	# Acesso	Referência
Mi-1.2	Tomateiro (*Lycopersicon peruvianum*)	Mosca branca (*Bemisia tabaci*)	AF039682	(NOMBELA et al., 2003)
Mi-9	Tomateiro (*Solanum arcanum*)	NFG (*Meloidogyne incognita*)	não isolado	(AMMIRAJU et al., 2003)
Cre1	Trigo (*Triticum aestivum*)	NFC (*Heterodera avenae*)	não isolado	(DE MAJNIK et al., 2003)
Hsa-1Og	Arroz africano (*Oryza glaberrima*)	NFC (*Heterodera sacchari*)	não isolado	(LORIEUX et al., 2003)
Gro1-4	Batateiro (*Solanum tuberosum*)	NFC (*G. rostochiensis*)	AY196151	(PAAL et al., 2004)
H1	Batateiro (*Solanum tuberosum*)	NFC (*G. rostochiensis*)	não isolado	(BAKKER et al., 2004)
Mi-3	Tomateiro (*Lycopersicon esculentum*)	NFG (*M. incognita, M. javanica* e *M. arenaria*)	não isolado	(YAGHOOBI et al., 2005)
CaMi	Pimenteiro (*Capsium annuum*)	NFG (*Meloidogyne incognita*)	AF039682	(CHEN et al., 2007)

NFG: nematóide formador de galha (*Meloidogyne* spp.);
NFC: nematóide formador de cisto (*Heterodera* spp. e *Globodera* spp.).

Vários genes *R* têm sido usados para introgressão nos programas de melhoramento genético de plantas perenes e anuais, para controlar nematóides de forma mais efetiva e ambientalmente segura (ROBERTS, 1992). A utilização de vários genes *R* é idealizada como salvaguarda dessa estratégia, evitando o rápido surgimento de espécies ou raças virulentas, que quebram a resistência em condições de campo, em resposta à grande pressão seletiva gerada quando se cultivam variedades resistentes em larga escala e sucessivamente. O gene *Mi*, isolado de tomate, confere resistência a três espécies de nematóides formadores de galha (HO et al., 1992) e tem sido associado à resistência ao anfídeo pulgão-da-batata (ROSSI et al., 1998; VOS et al., 1998). Esse gene de tomateiro, por conferir resistência aos principais NFG, *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* (GILBERT; MCGUIRE, 1956), é a principal forma de controle genético e tem sido utilizado atualmente para desenvolver cultivares de tomateiros resistentes. Há relatos que a resistência a NFG em campo pode ser extremamente duradoura (ROBERTS, 1995), uma vez que diversas cultivares de tomateiros com o gene *Mi* incorporado demonstram resistência mesmo após 40 anos de plantio.

Contudo, já foi observado, em laboratório e em campo, que têm surgido pelo mundo diversas populações que quebram resistência gerada pelo gene *Mi*, como resultado da exposição repetida de plantas resistentes aos NFG (EDDAOUI et al., 1997; KALOSHIAN et al., 1996; TZORTZAKAKIS; GOWEN, 1996). O aumento de virulência ao *Mi* foi observado em 5 de 26 populações de *M. incognita* analisadas, em 5 de 12 de *M. arenaria* e em 4 de 22 de *M. javanica* (TRUDGILL; BLOK, 2001). Mesmo partindo de uma única massa de ovos de *M. incognita*, a virulência aumenta em tomateiros com o gene *Mi* (BOST; TRIANTAPHYLLOU, 1982; JARQUIN-BARBERENA et al., 1991; TRIANTAPHYLLOU; SASSER, 1960), pimenteiras com o gene *Me3* (CASTAGNONE-SERENO et al., 1996) e na antagonista feijão-caupi (ROBERTS, 1995). A resistência a NFG pode afetar a manutenção do sítio de alimentação, ou ainda a invasão e estabelecimento do parasitismo (TRUDGILL; BLOK, 2001). As plantas hospedeiras desfavoráveis ou não-hospedeiras devem liberar substâncias tóxicas que matam ou induzem quiescência nas larvas ou, por outro lado, não devem liberar exsudatos atrativos para o quimiotropismo das larvas. Entretanto, há evidências que nem todos os genes de resistência são capazes de gerar aumento de virulência. O gene *Me1* da pimenteira, talvez por atuar contra as fêmeas adultas, ao

contrário de *Mi* e *Me3* que atuam sobre larvas infectantes, não condicionou seleção para nematóides virulentos (CASTAGNONE-SERENO et al., 1996).

O surgimento de populações de nematóides virulentas em cultivares resistentes é motivo para preocupação, já que afeta a durabilidade dos genes de resistência utilizados (SEMBLAT et al., 2000). Populações de NFG apomíticos virulentos e não-virulentos ao *Mi* foram testadas quanto ao padrão de polimorfismo de tamanho de fragmentos amplificados ("Amplified Fragment Lenght Polymorphism", AFLP). Porém, não ocorreu associação entre os grupos, indicando que populações virulentas não compartilham um ancestral comum (SEMBLAT et al., 2000). Assim, sugere-se que as populações virulentas surgem de populações não-virulentas. As populações de campo diferem quanto a sua virulência e gama de hospedeiros, não necessariamente como resultado de pressões seletivas conhecidas.

Interação molecular planta-nematóide compatível

Os fitonematóides endoparasitas sedentários formam uma interação muito íntima e sofisticada com a planta hospedeira (ABAD et al., 2003), promovendo a invasão do tecido vegetal, a evasão dos mecanismos de defesa e a formação dos sítios de alimentação permanentes (DAVIS et al., 2004).

Os NFG e NFC, quando larvas L2 recém-eclodidas, procuram as raízes dos hospedeiros por quimiotaxismo, usando um apurado sistema sensorial que percebe exudados vegetais. Larvas infectivas não se alimentam até o estabelecimento do parasitismo, e suas reversas energéticas são corpúsculos de lipídeos (ABAD et al., 2003), armazenadas na porção posterior de seu corpo, suficientes para sua manutenção por aproximadamente duas semanas. A penetração da raiz se dá na base da coifa, na zona meristemática. Após a migração no tecido, intracelular em NFC e intercelular em NFG, facilitada por suas celulases, pectinases e proteases (HUSSEY et al., 2002) e por expansinas vegetais (GAL et al., 2006), os nematóides atingem o parênquima vascular, onde induzem a formação do sítio de alimentação.

Para um parasitismo bem sucedido, o fitonematóide depende muito da formação do sítio de alimentação (VAN DER EYCKEN et al., 1996), pois este será sua única fonte de nutrientes durante todo seu ciclo de vida

(WILLIAMSON; GLEASON, 2003). O sítio de alimentação é o conjunto de células vegetais diferenciadas situadas na porção anterior ao nematóide. Apesar de estrutural e funcionalmente equivalentes, afinal são grandes e funcionam como drenos de nutrientes do cilindro vascular para o fitonematóide, sua formação é diferenciada em NFC e NFG (Fig. 1). Os NFC induzem a formação de sincício, a partir da fusão citoplasmática de células da vizinhança. Já, os NFG modificam o ciclo celular, balanço hormonal, sinalização celular, expressão gênica e, conseqüentemente, a fisiologia da raiz, induzindo a formação de três a cinco células gigantes multinucleadas (BIRD et al., 2003).

Atualmente, dois enfoques principais têm sido adotados para compreender a IMPN compatível, a fim de sugerir mecanismos de controle. A primeira abordagem é a identificação dos genes ou proteínas dos fitonematóides que viabilizam o parasitismo de plantas, ou seja, focando o parasita. A outra, focando o hospedeiro, é o estudo dos genes das plantas que são ativados ou inibidos, que culminam nas alterações fisiológicas, celulares e moleculares.

Genes de parasitismo do nematóide

Nematóides sedentários produzem ampla gama de proteínas de secreção (HUSSEY et al., 2002), que são então secretadas na interface do nematóide com as células hospedeiras (Fig. 2 e 3). Assim, o estabelecimento e a manutenção do parasitismo têm sido fortemente correlacionados com essas secreções protéicas de nematóides (VANHOLME et al., 2004), nomeadas de proteínas de parasitismo, secretoma ou ainda parasitoma (DAVIS et al., 2004). Essas proteínas de secreção estão relacionadas com os processos de migração e formação do sítio de alimentação, onde promovem uma mudança radical na expressão de genes e no metabolismo das células vegetais envolvidas (DAVIS et al., 2000). As duas glândulas subventrais estão desenvolvidas e ativas durante a segunda fase larval L2 e, por isso, são relacionadas ao estabelecimento do parasitismo, especificamente invasão da raiz, migração nos tecidos vegetais e indução do sítio de alimentação (HUANG et al., 2003). Por outro lado, na fase adulta, as fêmeas apresentam uma glândula dorsal desenvolvida e produtora de secreções relacionadas à manutenção do parasitismo (BIRD et al., 2003).

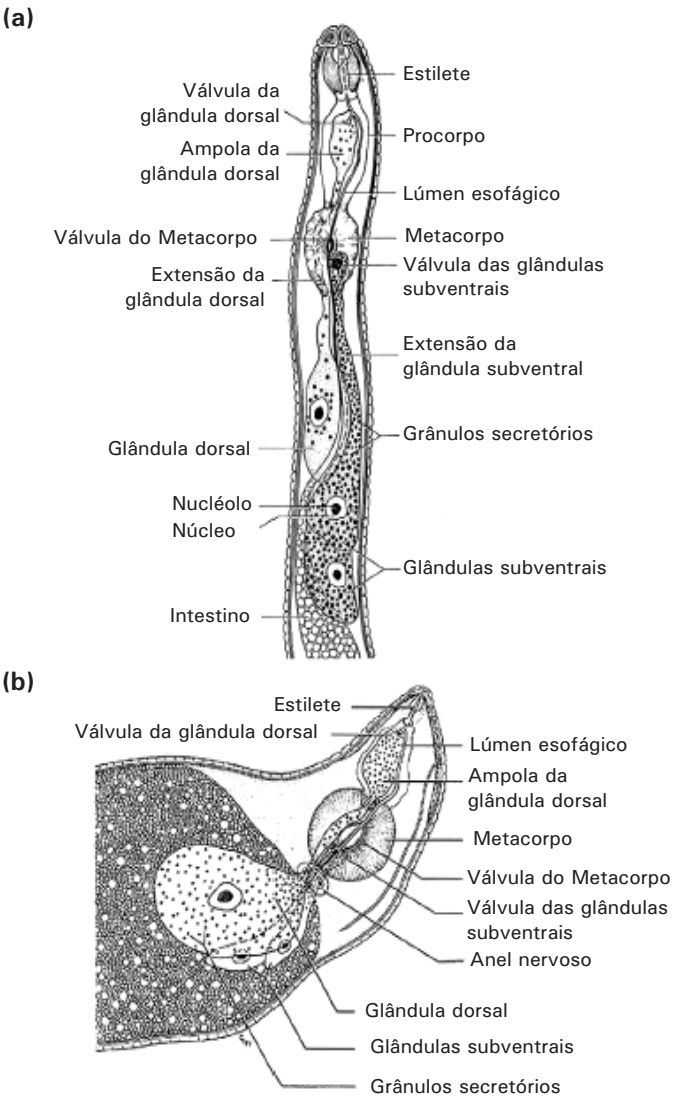


Fig. 2. Anatomia de fitonematóides endoparasitas sedentários. (a) Larva infectiva L2 e sua estrutura interna. Destacam-se as duas glândulas subventrais hipertrofiadas, relacionadas com o estabelecimento do parasitismo, enquanto a glândula dorsal está atrofiada. **(b)** Fêmea adulta parasita com as glândulas subventrais atrofiadas e a glândula dorsal hipertrofiada, associada à manutenção do parasitismo. Modificado da figura de DAVIS et al., 2004.

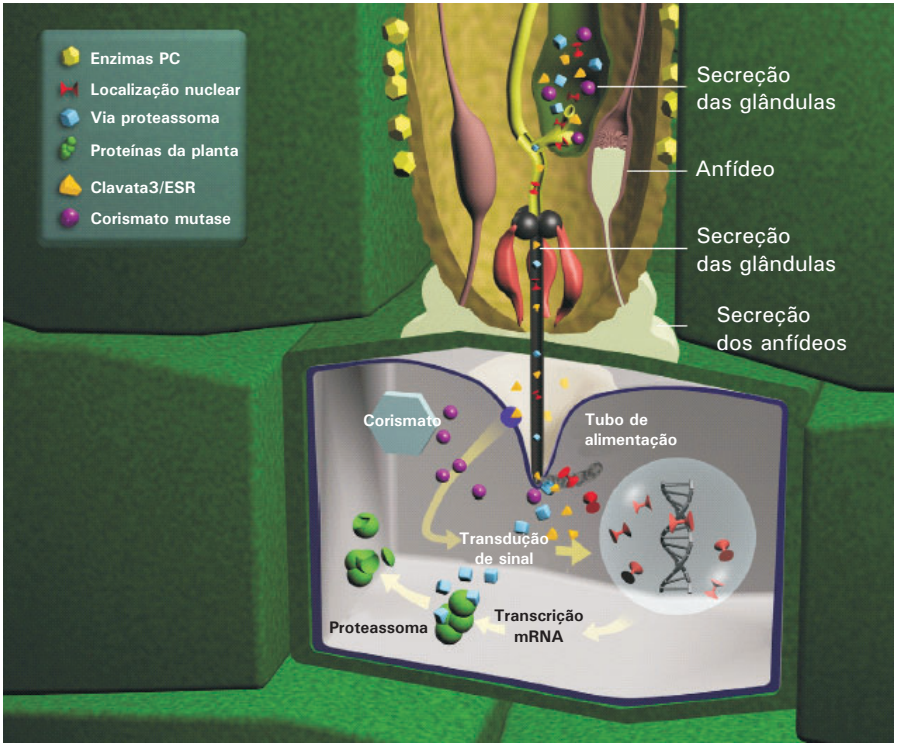


Fig. 3. Representação esquemática da interação molecular planta-nematóide. A partir da secreção de proteínas de parasitismo, secretoma ou parasitoma, ocorre uma desprogramação da regulação da expressão gênica da célula vegetal hospedeira, a fim de transformá-la em dreno de nutrientes para os nematóides. Vários mecanismos de alteração da fisiologia celular já foram descritos e envolvem alterações na síntese de hormônios vegetais (Corismato mutase), na transdução de sinais (peptídeos homólogos a CLAVATA3/ESR), na indução de mitose, na duração de mRNAs e degradação proteínas vegetais (ativação de proteassoma) e na ativação/inibição da expressão de genes do hospedeiro (proteínas com sinal de localização nuclear), além das bem descritas proteínas de modificação da parede celular (celulases, enzimas pectinolíticas, xilanases e expansinas). Essas proteínas da secreção direta ou indiretamente modificam as células vegetais para a formação do sítio de alimentação em nematóides formadores de galha ou sincício em nematóides formadores de cisto. Modificado da figura de Bill Baverstock (North Carolina State University Creative Services), obtida do artigo de DAVIS et al., 2003.

Grandes esforços têm sido aplicados por vários grupos de pesquisa para elucidar essa IMPN e descobrir genes de parasitismo, por meio de variadas estratégias e abordagens (Tabela 2). Já existem várias bibliotecas de ESTs de diversos nematóides (PARKINSON et al., 2003) e algumas de *M. incognita* (MCCARTER et al., 2003) para a descoberta de moléculas-alvo para interrupção do parasitismo. Uma recente técnica consite na microaspiração das glândulas subventrais (Fig. 2) para a construção de uma biblioteca de cDNAs específicos de glândulas ativas durante a fase infectiva e o estabelecimento do parasitismo (GAO et al., 2001; HUANG et al., 2003; JAUBERT et al., 2002b). Apesar de muito elegante, essa estratégia negligencia genes de parasitismo expressos em anfídeos (DAVIS et al., 2004), que são órgãos quimiossensitivos e secretórios, além de não considerar genes-alvo críticos no desenvolvimento, ecdise, digestão, reprodução, entre outros. Resumidamente, os trabalhos de identificação de genes de parasitismo, ou diretamente, de proteínas de parasitismo, têm resultado normalmente em proteínas totalmente desconhecidas, ou seja, pioneiras, e proteínas características de microrganismos, sem homologia com nenhuma proteína conhecida de metazoário.

A maioria dos genes de parasitismo não apresenta homologia com genes descritos, ou apenas apresenta com genes de bactérias (ABAD et al., 2003; BIRD et al., 2003; DAVIS et al., 2004; HUSSEY et al., 2002; JAUBERT et al., 2002b; VANHOLME et al., 2004). Dessa forma, alguns mecanismos evolutivos são sugeridos para explicar a origem do parasitoma, como: (i) adaptação de genes pré-existentes para codificar novas funções; (ii) duplicação gênica e divergência dos parálogos; (iii) transferência horizontal de genes (Fig. 4).

Nessa linha de pesquisa, um primeiro trabalho identificou quatro genes de celulases, sendo dois em *H. glycines* e dois em *G. rostochiensis*, dois de cada (SMANT et al., 1998). Ensaios de hibridização in situ comprovaram sua transcrição em glândulas subventrais de nematóides, livres de endossimbiontes, o que pode ser caracterizado como evidência de um evento de transferência horizontal de genes (THG). Depois desse trabalho pioneiro, outros genes tipicamente bacterianos foram identificados em nematóides: dois de celulases em *H. schachtii* (DE MEUTTER et al., 1998),

Tabela 2. Genes de parasitismo de diferentes espécies de fitonematóide.

Gene/Proteína	Fitonematóide	Função predita	# Acesso	Referência
Poligalacturonase	NFG (*M. incognita*)	Degradação da parede celular	AY098646	(JAUBERT et al., 2002a)
Chorismato mutase	NFG (*M. javanica*)	Formação de sítio de alimentação	AF095950	(DOYLE e LAMBERT, 2003)
Proteína 14-3-3	NFG (*M. incognita*)	Formação de sítio de alimentação	AF402309	(JAUBERT et al., 2004)
Calreticulina	NFG (*M. incognita*)	Formação de sítio de alimentação	AF402771	(JAUBERT et al., 2005)
Quitina sintase	NFG (*M. artiellia*)	Eclosão de L2	AY013285	(FANELLI et al., 2005)
Pectato liase	NFG (*M. incognita*)	Degradação da parede celular	AF527788	(HUANG et al., 2005)
Dupla oxidase	NFG (*M. incognita*)	Biossíntese de cutícula	DQ082753	(BAKHETIA et al., 2005b)
SXP/RAL-2	NFG (*M. incognita*)	Formação de sítio de alimentação	AY491518	(TYTGAT et al., 2005)
Peptídeo Hg-SYV46	NFC (*H. glycines*)	Formação de sítio de alimentação	AF273728	(WANG et al., 2005)
β-1,4 endoglucanase	NFC (*G. rostochiensis*)	Degradação da parede celular	AF004523	(CHEN et al., 2005)

NFG: nematóide formador de galha (*Meloidogyne* spp.);
NFC: nematóide formador de cisto (*Heterodera* spp. e *Globodera* spp.).

um de celulase em *M. incognita* (ROSSO et al., 1999), um de corismato mutase em *M. javanica* (LAMBERT et al., 1999), dois de celulases em *G. tabacum* (GOELLNER et al., 2000), um de pectato liase de *G. rostochiensis* (POPEIJUS et al., 2000), um de poliglutamato sintetase em *M. artiellia* (VERONICO et al., 2001), dois de celulases em *Pratylenchus penetrans* (UEHARA et al., 2001), um terceiro de celulase em *H. glycines* (YAN et al., 2001), um de poligalacturonase em *M. incognita* (JAUBERT et al., 2002a), um de pectato liase em *M. javanica* (DOYLE; LAMBERT, 2002), um de pectato liase em *H. glycines* (DE BOER et al., 2002) e um de celulase em *H. glycines* (GAO et al., 2002). Após quatro anos, somavam-se 19 genes de nematóides que codificavam sete grupos de enzimas tipicamente bacterianas. Após essas descobertas, a hipótese de THG de bactérias para nematóides ficou mais sustentada, servindo como paradigma para busca de genes de parasitismo (Fig. 4).

Uma biblioteca de etiquetas de seqüências expressas (ESTs) de *M. incognita* com 1.625 grupos apresentou 51 ESTs codificadoras de uma proteína similar a fator de nodulação L (NodL) de *Rhizobium leguminosarum* (MCCARTER et al., 2003). Uma nova abordagem foi possível devido ao grande número de ESTs em bancos de dados (PARKINSON et al., 2003), além de genomas completos de *Caenorhabditis elegans* e *Drosophila melanogaster*. Partindo de análises in silico, 12 genes de THG (seis já caracterizados como THG e seis candidatos novos) foram identificados a partir de aproximadamente 5.000 ESTs (SCHOLL et al., 2003). Resumidamente, as ESTs de NFG foram selecionadas seguindo os critérios: principal identidade peptídica com bactérias; ausência nos genomas de *C. elegans* e *Drosophila*; e, por fim, ausência de homologia com as seqüências de animais do GenBank não redundante. Assim, seis genes candidatos foram selecionados, sendo que quatro desses apresentam identidade alta com proteínas de rizóbios e codificam enzimas relacionadas com a formação do nódulo.

Já era sabido que NFG e *Sinorhizobium melioti* apresentavam uma sobreposição nas vias de transdução de sinais de plantas que eram ativadas respectivamente nas interações parasitárias e simbióticas (KOLTAI et al., 2001). Apesar de os autores sugerirem a convergência evolutiva para tal "coincidência", não deixaram de sugerir também THG como uma possível

explicação. Mais recentemente, houve a comprovação de que exatamente a mesma via de transdução de sinais é ativada e que as modificações do citoesqueleto nas células vegetais são similares àquelas observadas durante a formação das células gigantes, assim como às encontradas na formação dos nódulos (WEERASINGHE et al., 2005). Conjuntamente consideradas, as evidências sugerem que essas interações parasitárias e simbióticas são tão parecidas porque, justamente, são orquestradas por genes homólogos.

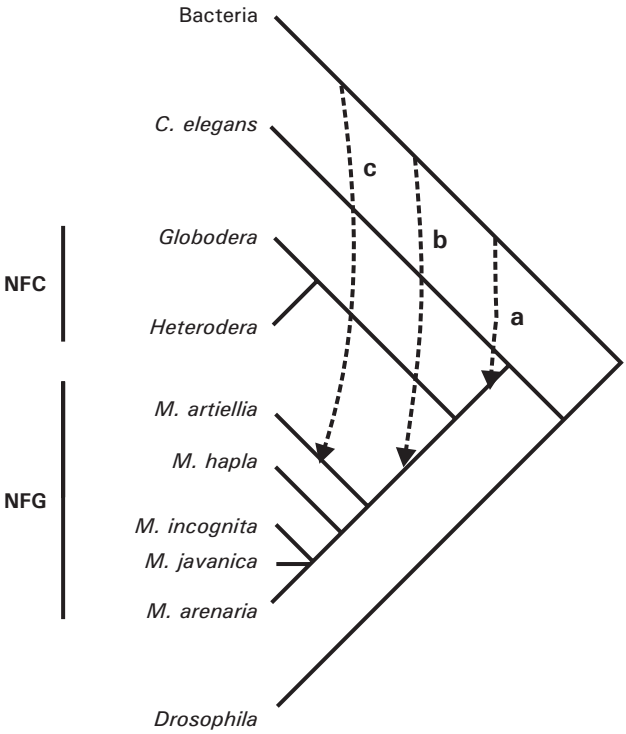


Fig. 4. Dendrograma contrastando ancestralidade com transferência horizontal de genes. (a) Evento muito antigo de transferência horizontal de genes de bactérias para nematóides ancestrais de *Heterodera* spp., *Globodera* spp. e *Meloidogyne* spp. (b) Evento antigo, gênero-específico, com a transferência horizontal de genes de bactérias ao ancestral de *Meloidogyne* spp. (c) Transferência horizontal recente de gene bacteriano para *Meloidogyne artiellia*, ou seja, evento espécie-específico. Modificado de Bird et al. (2003).

Os nódulos são formados a partir da modificação fisiológica das células vegetais, resultantes da reprogramação da expressão de genes, condicionada por proteínas bacterianas de nodulação (NodA, NodB, NodC, NodD, NodL, NodX e NodN). A bactéria fitopatogênica *Agrobacterium tumefasciens* (ou *Rhizobium radiobacter*) parece ter perdido parte do repertório genético para a simbiose, mas utiliza algumas proteínas remanescentes em interações de parasitismo (NodL, NodX e NodN), gerando tumores vegetais na doença galha-de-coroa. De forma semelhante, os nematóides fitoparasitas parecem ter ganhado parte do repertório genético típico para a simbiose, que é utilizado na IMPN.

Genes de plantas hospedeiras diferencialmente expressos

Estudos de genômica funcional têm sido aplicados em IMPN compatíveis. Para compreensão dessas, um importante questionamento a ser respondido é quais genes da planta hospedeira são ativados e quais são inibidos para orquestrar a complexa IMPN. Várias técnicas moleculares, incluindo "differential display" (HERMSMEIER et al., 2000; HERMSMEIER et al., 1998; VERCAUTEREN et al., 2001), fusão promotor:gene-repórter (BARTHELS et al., 1997; FAVERY et al., 1998; GODDIJN et al., 1993; GOVERSE et al., 1998; NIEBEL et al., 1996; PUZIO et al., 2000), hibridização de RNA ("northern blot"), imunolocalização de proteína, hibridização in situ (GOELLNER et al., 2001; NIEBEL et al., 1993) e varredura em biblioteca diferencial (GURR et al., 1991), têm sido aplicadas para formar uma visão inicial do processo de parasitismo.

Recentemente, a análise de expressão gênica em escala genômica se tornou possível com o advento de novas estratégias como a hibridização de microarranjo ("microarray"), a análise serial de expressão gênica (SAGE) e o PCR quantitativo em tempo real (qRT-PCR), que compartilham alta sensibilidade e precisão. Vários grupos de pesquisa têm trabalhado com genômica funcional em células do sítio de alimentação, propondo-se gerar uma visão ampla da intrincada relação entre as plantas e os nematóides parasitas de plantas (Tabela 3). Além do padrão de expressão gênica comparativa entre plantas infectadas e não infectadas, a análise no decorrer da infecção é essencial para diferenciar o estabelecimento e a manutenção do parasitismo.

Tabela 3. Processos biológicos alterados em plantas durante a interação molecular planta-nematóide compatível em diferentes momentos de infecção.

Processo biológico ou função predita do gene (Proteína)	Planta	Nematóide e tempo pós-infecção (técnica de análise)	Referência
▼ Defesa (PR1) ▲ Resposta à estresse (proteínas de choque térmico) ▲ Amolecimento de parede celular (expansina; extensina; pectinesterases) ▲ Fator de Transcrição (WRKY; ERF)	*Arabidopsis thaliana*	NFC *Heterodera schachtii* e *H. glycines* em 3 dpi (Microarranjo)	(PUTHOFF et al., 2003)
▲ Defesa ▲ Resposta à estresse (peroxidase; SAM22) ▲ Metabolismo de carboidrato ▲ Sinalização celular ▲ Desconhecida	*Glycines max*	NFC *Heterodera glycines* em 2 dpi (Microarranjo)	(KHAN et al., 2004)
▲ Defesa (SRG2) ▲ Canal de água (GmPIP2,2) ▲ Citoesqueleto (GmTubA1; GmTubB4) ▲ Ligação à DNA (MYB-related protein) ▼ Catabolismo de Proteína (ubiquitina)	*Glycines max*	NFC *Heterodera glycines* em 8 dpi (Biblioteca de EST)	(KLINK et al., 2005)
▼ Defesa ▲ Amolecimento de parede celular (expansina; pectato liase; poligalacturonase; xiloglucano endotransglicosilase)	*Arabidopsis thaliana*	NFG *Meloidogyne incognita* em 7, 14 e 21 dpi (Microarranjo)	(JAMMES et al., 2005)

Continua...

Tabela 3. Continuação.

Processo biológico ou função predita do gene (Proteína)	Planta	Nematóide e tempo pós-infecção (técnica de análise)	Referência
▼ Defesa (PR1) ▼ Resposta à estresse (peroxidase) ▲ Relacionado com etileno ▲ Relacionado com patogênese ▲ Fator de transcrição (relacionado ao desenvolvimento WRKY)	*Lycopersicon esculentum*	NFG *Meloidogyne javanica* em 5 e 10 dpi (Microarranjo)	(BAR-ORL et al., 2005)
▲ Defesa ▲ Resposta à ferimento ▲ Fator de transcrição (WRKY) ▲ Duplicação de DNA ▲ Transcrição de RNA ▲ Tradução de Proteína ▲ Desconhecida	*Glycines max*	NFC *Heterodera glycines* em 6 hpi, 12 hpi 1, 2, 4, 6 e 8 dpi (Microarranjo)	(ALKHAROUF et al., 2006)
▲ Defesa ▲ Resposta à estresse (peroxidase) ▲ Metabolismo primário e secundário ▲▼ Modificação de parede celular ▲ Crescimento e desenvolvimento vegetal ▲ Sinalização celular ▲ Fator de transcrição (WRKY; bZIP; ERF; MYB)	*Glycines max*	NFC *Heterodera glycines* em 2, 5 e 10 dpi (Microarranjo)	(ITHAL et al., 2007a)

Continua...

Tabela 3. Continuação.

Processo biológico ou função predita do gene (Proteína)	Planta	Nematóide e tempo pós-infecção (técnica de análise)	Referência
▲ Relacionado com patogênese ▲ Metabolismo primário e secundário ▲▼ Modificação de parede celular ▲ Biossíntese de lignina e suberina ▲ Transportador de açúcar, íon de metal e aminoácido ▲ Relacionado com auxina ▲ Relacionado com etileno ▲ Relacionado com citocinina ▲ Relacionado com giberelina ▲ Biossíntese de ácido jasmônico	*Glycines max*	NFC *Heterodera glycines* em 2, 5 e 10 dpi) (Microarranjo)	(ITHAL et al., 2007b)
▲ Relacionado com patogênese (BURP) ▲ Estresse oxidativo (peroxidase; catalase) ▲ Transporte de sacarídeos relacionados à patogênese (hexose; sacarose) ▲ Amolecimento de parede celular (extensina; pectina esterase) ▲ Inibidor de protease (multicistatina) ▲ Regulada por auxina (RSI-1) ▲ Relacionado à desenvolvimento (PHAP2A) ▼ Canal de água (Rb7)	*Lycopersicon esculentum*	NFC *Globodera rostochiensis* em 14 dpi (SAGE)	(UEHARA et al., 2007)

A expressão diferencial de genes individuais, comparando plantas infectadas e não infectadas, em diferentes tempos, foi relacionada com função gênica predita e processo biológico. As pontas de setas para cima indicam ativação (▲) e para baixo, inibição (▼) putativa dos processos biológicos como resultado da predominância de genes individuais ativados ou inibidos, medidos experimentalmente.

Puthoff et al. (2003) utilizaram técnicas de determinação do padrão de expressão gênica para identificar genes diferencialmente expressos em plantas de Arabidopsis durante o parasitismo por NFC *Heterodera schachtii* e *Heterodera glycines* três dias após infecção (dpi) em relação a plantas não infectadas. Esse estudo apontou 128 genes de plantas infectadas com níveis de mRNA diferentes nas plantas não infectadas. Desses, 82 genes mostraram ativação de expressão, enquanto 46 genes mostraram inibição durante a IMPN. Esses 128 genes codificam proteínas que se agrupam em classes funcionais de defesa, resposta a estresse, modificação da parede celular, metabolismo, transdução de sinal, fator de transcrição e ação de fitormônios.

Khan et al. (2004) compararam 1.300 insertos de cDNA de soja em 2 dpi com *H. glycines*. Nesse estudo, os genes codificadores de proteínas desconhecidas representavam metade dos genes que sofreram alteração de expressão, ativação ou inibição. Klink et al. (2005) utilizaram a recente técnica de microdissecação a laser ("laser capture microdissection", LCM), para coletar sincícios de raízes de soja após 8 dpi com *H. glycines*. A partir de 800 cDNA seqüenciados, o agrupamento resultou em 174 seqüências consensos, sendo 6 ativadas, 1 inibida e 5 ativadas ou inibidas durante a IMPN, resultado confirmado por qRT-PCR.

Jammes et al. (2005) fizeram um estudo de microarranjo usando lâminas com o transcriptoma completo de Arabidopsis contendo 22.089 genes. Foram comparadas raízes infectadas e não infectadas com *M. incognita*, nos tempos de 7, 14 e 21 dpi. Eles identificaram 3.373 genes que apresentaram expressão diferencial, ativação ou inibição, entre raízes não infectadas e galhas. Esses genes de plantas foram relacionados a vários processos biológicos naturais, que, quando desregulados pelo nematóide, levam ao desenvolvimento de galhas. Alguns processos biológicos parecem ser ativados, isso porque a maioria dos genes a eles relacionados apresentou maior nível de expressão durante a infecção. No entanto, outros processos biológicos parecem ser minados pelo nematóide, pois os genes associados demonstraram predominantemente menor abundância de mRNA durante a IMPN. Um terceiro tipo de resultado ocorre quando o processo

biológico não apresenta aparentemente uma ativação ou inibição global, mas alguns genes que são fracamente ativados e outros inibidos. Metabolismo de parede celular, regulação do ciclo celular, processamento de DNA, síntese de energia e proteína são processos aparentemente induzidos. Em contraste, proteção e defesa celular, comunicação celular e transporte celular aparentemente são reprimidos, especialmente após 14 e 21 dpi.

Bar-Orl et al. (2005) fizeram experimentos de microarranjo de tomateiro susceptível infectado com *M. javanica* em 5 e 10 dpi, e detectaram mudanças de expressão em 516 genes relacionados com várias categorias funcionais como relacionado com patogênese, relacionado com fitormônio e fator de transcrição associado ao desenvolvimento vegetal. Alkharouf et al. (2006), usando lâmina de microarranjo com mais de 6.000 insertos de cDNA, detectaram centenas de genes diferencialmente expressos, ativação ou inibição, em tempos de 6 horas após infecção (hpi), 12 hpi, 1, 2, 4, 6 e 8 dpi.

Ithal et al. (2007a) simultaneamente compararam raízes de soja infectadas com as não infectadas e fases de desenvolvimento de *H. glycines* em 2, 5 e 10 dpi. A análise de microarranjo de 35.611 genes de soja e 7.431 genes de nematóide da soja foi monitorada durante a IMPN compatível. Foram detectados 429 genes de plantas e 1.850 genes de nematóide que apresentaram expressão gênica diferencial e, provavelmente, são relacionados aos mecanismos de resistência/patogênese. Foi notado que a maioria dos genes de plantas que codificam proteínas relacionadas com o metabolismo básico, resposta a estresse, defesa, enzimas modificadoras de parede celular, sinalização celular e ativação da transcrição tem sua expressão aumentada durante a infecção do nematóide (ITHAL et al., 2007a). Ithal et al. (2007b) também realizaram um microarranjo para estudar o desenvolvimento do sincício em raízes de soja infectadas com nematóide da soja de 0 a 10 dpi. Usando lâminas com 35.611 genes de soja representados, eles observaram 1.765 genes com mudanças no padrão de expressão até o segundo dpi, onde 1.116 foram ativados enquanto 649 foram inibidos. A técnica de SAGE foi utilizada com sucesso para estudar a IMPN, identificando genes novos, ou com função desconhecida, que não

estão disponíveis em lâminas comerciais para os experimentos de microarranjo (UEHARA et al., 2007). Assim, Uehara et al. (2007) identificaram 69 genes de tomateiro que têm a expressão ativada depois de 14 dpi com *Globodera rostochiensis*, onde mais de 20 % desses são genes desconhecidos.

Estratégias moleculares de validação funcional de genes e de controle de fitonematóides

Inúmeros estudos de genômica funcional da IMPN têm como maior desafio a elucidação da função gênica, que pode gerar informações valiosas para compreender esse patossistema e para sugerir alternativas de controle. Como herança da era genômica, milhares de ESTs de fitonematóides e de plantas foram seqüenciados e anotados. A era pós-genômica conta com milhares de seqüências gênicas já conhecidas e novas estratégias moleculares de validação funcional gênica individual, o desafio atual do estudo da IMPN. Talvez, a compreensão ampla e global desse patossistema seja apenas obtida quando os estudos incorporarem um enfoque de biologia sistêmica (integração de genômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica), no lugar dos atualmente viáveis estudos pontuais caso-a-caso (KLINK et al., 2007).

Atualmente, as duas principais estratégias moleculares de validação funcional são superexpressão gênica *in planta* ou silenciamento gênico no nematóide. No primeiro caso, os genes de fitonematóides são isolados e utilizados na transformação de plantas modelo, que passam a produzir em larga escala as proteínas correspondentes. Assim, as plantas GM demonstram alterações fisiológicas que são relacionadas a genes individuais do nematóide (DUAN et al., 1999). No segundo caso, os genes do fitonematóide são também isolados, montados em duas cópias invertidas e utilizados na transformação de plantas. Nesse caso, inversamente, as plantas GM não produzem as proteínas correspondentes e também não permitem que os nematóides as produzam. Esse fenômeno é conhecido como silenciamento da expressão gênica ou interferência mediada por RNA

dupla fita, resumido como RNA interferente (RNAi). Esse processo é comparativamente mais rápido, mais fácil e mais eficiente na caracterização funcional de genes, além de representar por si o próprio mecanismo de controle de nematóides. Às vezes, um único gene silenciado impede, ou altera, etapas do parasitismo ou do ciclo de vida como: aumento da razão macho/fêmea; redução do estabelecimento de parasitismo; atraso de desenvolvimento; menor fecundidade; menor eclosão; dificuldade de localizar raízes e invadi-las; redução de mobilidade; redução de galhas; e redução do número de fêmeas (LILLEY et al., 2007).

Com relação a IMPN, a maioria das proteínas identificadas no parasitoma tem função desconhecida, além de a quantidade ser relativamente pequena. Assim, estudos de validação são cruciais para uma melhor compreensão dos mecanismos de infecção e defesa durante a IMPN. De fato, vários estudos têm focalizado na elucidação da função das proteínas presentes no secretoma dos fitonematóides, principalmente utilizando expressão heteróloga (Tabela 2). Recentemente, foi demonstrado que a superexpressão do gene de corismato mutase I de *M. javanica* altera a via xiquimato por causa da degradação do corismato citoplasmático, que resulta num fenótipo de redução ou aborto das radícolas laterais em soja, provavelmente como conseqüência da redução dos níveis de auxinas nos plastídios. Outro estudo similar mostrou que a superexpressão de Hg-SYV4, um peptídeo secretado por *H. glycines*, relacionado com a família da proteína CLAVATA3/ESR-related (CLE) com o C-terminal modificado, em plantas de *Arabidopsis*, regula negativamente a expressão do fator de transcrição WUSCHEL, levando a redução da população de células totipotentes e terminação prematura do meristema apical e desenvolvimento de flores sem o gineócio central (WANG et al., 2005). Finalmente, a expressão de 16D10, um peptídeo secretado por *M. incognita*, em plantas de *Arabidopsis* estimula o crescimento radicular pela interação com fatores de transcrição da família SCARECROW-like (HUANG et al., 2006). Os trabalhos citados mostram como proteínas secretadas por nematóides podem afetar as funções celulares do hospedeiro e sugerem a participação dessas moléculas bioativas nos eventos que culminam na formação do sítio de alimentação.

A primeira aplicação de RNAi em fitonematóides (URWIN et al., 2002) foi eficaz no silenciamento da expressão gênica de proteinases. O tratamento com neurotransmissores obriga a deglutição in vitro do RNA de fita dupla (dsRNA), já que normalmente larvas L2 não se alimentam fora do hospedeiro. Para NFC, usa-se octopamina (CHEN et al., 2005; URWIN et al., 2002) e, para NFG, o resorcinol tem mostrado melhores resultados (BAKHETIA et al., 2005a; BAKHETIA et al., 2005b; HUANG et al., 2006). Já foi demonstrado que até mesmo ovos podem absorver dsRNA para silenciamento gênico eficiente (FANELLI et al., 2005).

Estudos funcionais usando RNAi têm também revelado genes do secretoma, que são de fato essenciais no parasitismo ou desenvolvimento do nematóide. Por exemplo, a presença de dsRNA contra transcritos de celulase de *G. rostochiensis* reduz a capacidade de invasão das larvas L2 infectivas nas raízes de batateiro, indicando que as celulases são realmente necessárias no processo infectivo (CHEN et al., 2005). A ingestão de dsRNA contra cisteíno proteinase tipo catepsina L de *M. incognita* resultou na redução de raízes infectadas com nematóides em 60 %, sugerindo que o RNAi pode também ser utilizado como molécula antinutricional (SHINGLES et al., 2007). Finalmente, a expressão de dsRNA *in planta* se mostrou efetiva no controle de fitonematóide por direcionar a degradação de mRNA homólogos (HUANG et al., 2006; YADAV et al., 2006).

Uma série de experimentos de RNAi, in vitro e *in planta*, tem mostrado um enorme potencial para o estudo dos fenótipos individuais de genes de parasitismo e para o controle de fitonematóides (BAKHETIA et al., 2005b). A transformação de plantas para produção de dsRNA, específico para genes de parasitismo ou genes letais em nematóides, não implica em novas proteínas, evitando assim uma enorme série de preocupações com relação à contaminação do meio ambiente ou resposta alérgica do consumidor, sugerindo que essa seja, até o momento, a estratégia mais promissora para controle de nematóides (LILLEY et al., 2007).

Considerações finais

Nesta revisão, foram apontados vários genes, proteínas, metabólitos e processos biológicos que têm sido associados a IMPN incompatível e compatível, descritos pela literatura, a fim de esboçar esse patossistema e discorrer sobre moléculas bioativas de plantas, moléculas-alvo de nematóides e métodos alternativos de controle de nematóides parasitas de plantas.

Considerando a IMPN incompatível, existem complexos mecanismos naturais de defesa, que envolvem inúmeros metabólitos secundários desconhecidos, que atuam em mecanismos igualmente desconhecidos, ou ainda, existem intrincadas redes de transdução de sinal da resposta hipersensitiva, iniciados pelos genes *R*, que não podem ser facilmente compreendidas ou incorporadas em programas de melhoramento genético de plantas não relacionadas à fonte do gene *R*.

Considerando a IMPN compatível, apenas alguns genes de parasitismo de nematóide têm sua função conhecida na IMPN, pois existe um grande número desses genes que codificam proteínas pioneiras, que não têm homologia com nenhuma proteína descrita em bancos de dados e, portanto, não têm nenhuma função predita. Por outro lado, vários processos fisiológicos de plantas são alterados, sendo mediados por centenas de genes diferencialmente expressos no parasitismo por nematóide.

A questão biológica atual a ser respondida é: quais proteínas do nematóide modificam quais processos celulares, moleculares ou metabólicos na planta hospedeira? De fato, já existem vários fatores de defesa da planta e de parasitismo do nematóide que são candidatos para estudos de validação funcional. A superexpressão e/ou o silenciamento desses genes podem contribuir para o desenvolvimento de estratégias moleculares de controle de nematóides, uma vez que determinam a função individual de genes-alvo potenciais na IMPN. No entanto, a compreensão ampla e global desse patossistema provavelmente só será obtida quando os estudos tiverem um enfoque de biologia sistêmica (integração de genômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica), no lugar dos atuais estudos pontuais caso-a-caso.

Referências

ABAD, P.; FAVERY, B.; ROSSO, M. N.; CASTAGNONE-SERENO, P. Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. **Molecular Plant Pathology**, v. 4, n. 4, p. 217-224, 2003.

ALKHAROUF, N. W.; KLINK, V. P.; CHOUIKHA, I. B.; BEARD, H. S.; MACDONALD, M. H.; MEYER, S.; KNAP, H. T.; KHAN, R.; MATTHEWS, B. F. Timecourse microarray analyses reveal global changes in gene expression of susceptible *Glycine max* (soybean) roots during infection by *Heterodera glycines* (soybean cyst nematode). **Planta**, v. 224, n. 4, p. 838-852, 2006.

AMARAL, D. R.; OLIVEIRA, D. F.; CAMPOS, V. P.; CARVALHO, D. A. Efeitos de alguns extratos vegetais na eclosão, mobilidade, mortalidade e patogenicidade de *Meloidogyne exígua* do cafeeiro. **Nematologia Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 43-48, 2002.

AMMIRAJU, J. S.; VEREMIS, J. C.; HUANG, X.; ROBERTS, P. A.; KALOSHIAN, I. The heat-stable root-knot nematode resistance gene *Mi-9* from *Lycopersicon peruvianum* is localized on the short arm of chromosome 6. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 106, n. 3, p. 478-484, 2003.

BAKER, B.; ZAMBRYSKI, P.; STASKAWICZ, B.; DINESH-KUMAR, S. P. Signaling in plant-microbe interactions. **Science**, v. 276, n. 5313, p. 726-733, 1997.

BAKHETIA, M.; CHARLTON, W.; ATKINSON, H. J.; MCPHERSON, M. J. RNA interference of dual oxidase in the plant nematode *Meloidogyne incognita*. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 18, n. 10, p. 1099-1106, 2005a.

BAKHETIA, M.; CHARLTON, W. L.; URWIN, P. E.; MCPHERSON, M. J.; ATKINSON, H. J. RNA interference and plant parasitic nematodes. **Trends in Plant Science**, v. 10, n. 8, p. 362-367, 2005b.

BAKKER, E.; ACHENBACH, U.; BAKKER, J.; VAN VLIET, J.; PELEMAN, J.; SEGERS, B.; VAN DER HEIJDEN, S.; VAN DER LINDE, P.; GRAVELAND, R.;

HUTTEN, R.; VAN ECK, H.; COPPOOLSE, E.; VAN DER VOSSEN, E.; BAKKER, J.; GOVERSE, A. A high-resolution map of the H1 locus harbouring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 109, n. 1, p. 146-152, 2004.

BAR-ORL, C.; KAPULNIK, Y.; KOLTAI, H. A broad characterization of the transcriptional profile of the compatible tomato response to the plant parasitic root knot nematode *Meloidogyne javanica*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 111, p. 181-192, 2005.

BARTHELS, N.; VAN DER LEE, F. M.; KLAP, J.; GODDIJN, O. J.; KARIMI, M.; PUZIO, P.; GRUNDLER, F. M.; OHL, S. A.; LINDSEY, K.; ROBERTSON, L.; ROBERTSON, W. M.; VAN MONTAGU, M.; GHEYSEN, G.; SIJMONS, P. C. Regulatory sequences of Arabidopsis drive reporter gene expression in nematode feeding structures. **Plant Cell**, v. 9, n. 12, p. 2119-2134, 1997.

BIRD, D. M.; OPPERMAN, C. H.; DAVIES, K. G. Interactions between bacteria and plant-parasitic nematodes: now and then. **International Jornal for Parasitology**, v. 33, n. 11, p. 1269-1276, 2003.

BLEVE-ZACHEO, T.; BONGIOVANNI, M.; MELILLO, M. T.; CASTAGNONE-SERENO, P. The pepper resistance genes *Me1* and *Me3* induce differential penetration rates and temporal sequences of root cell ultrastructural changes upon nematode infection. **Plant Science**, v. 133, n. 12, p. 79-90, 1998.

BOST, S. C.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Genetic basis of the epidemiological effects of resistance to *Meloidogyne incognita* in the tomato cultivar Small Fry. **Journal of Nematology**, v. 14, p. 540-544, 1982.

CAI, D.; KLEINE, M.; KIFLE, S.; HARLOFF, H. J.; SANDAL, N. N.; MARCKER, K. A.; KLEIN-LANKHORST, R. M.; SALENTIJN, E. M.; LANGE, W.; STIEKEMA, W. J.; WYSS, U.; GRUNDLER, F. M.; JUNG, C. Positional cloning of a gene for nematode resistance in sugar beet. **Science**, v. 275, n. 5301, p. 832-834, 1997.

CASTAGNONE-SERENO, P.; BONGIOVANNI, M.; PALLOIX, A.; DALMASSO, A. Selection for *Meloidogyne incognita* virulence against

resistance genes from tomato and pepper and specificity of the virulence/ resistance determinants. **European Journal of Plant Pathology**, v. 102, p. 585-592, 1996.

CHALLIS, G. L.; HOPWOOD, D. A. Synergy and contigency as driving forces for the evolution of multiple secondary metabolite production by *Streptomyces* species. **National Academy of Science of the United States**, v. 100, p. 14555-14561, 2003.

CHEN, Q.; REHMAN, S.; SMANT, G.; JONES, J. T. Functional analysis of pathogenicity proteins of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* using RNAi. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 18, n. 7, p. 621-625, 2005.

CHEN, R.; LI, H.; ZHANG, L.; ZHANG, J.; XIAO, J.; YE, Z. CaMi, a root-knot nematode resistance gene from hot pepper (*Capsium annuum* L.) confers nematode resistance in tomato. **Plant Cell Rep**, v. 26, n. 7, p. 895-905, 2007.

CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 221-249, 2002.

CHITWOOD, D. J. Research on plant-parasitic nematode biology conducted by the United States Department of Agriculture-Agricultural Research Services. **Pest Management Science**, v. 59, p. 748-753, 2003.

DAVIS, E. L.; HUSSEY, R. S.; BAUM, T. J. Getting to the roots of parasitism by nematodes. **Trends in Parasitology**, v. 20, n. 3, p. 134-141, 2004.

DAVIS, E. L.; HUSSEY, R. S.; BAUM, T. J.; BAKKER, J.; SCHOTS, A.; ROSSO, M. N.; ABAD, P. Nematode Parasitism Genes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 38, p. 365-396, 2000.

DAVIS, E. L.; RICH, J. R. Nicotine content of tobacco roots and toxicity to *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, v. 19, p. 23-29, 1987.

DE BOER, J. M.; MCDERMOTT, J. P.; DAVIS, E.; HUSSEY, R.; POPEIJUS, H.; SMANT, G.; BAUM, T. Cloning of a putative pectato lyase gene expressed in the subventral esophageal glands of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 34, p. 9-11, 2002.

DE LEY, P.; BLAXTER, M. Systematic position and phylogeny. In: Lee, D. L. (Ed.). **The Biology of Nematodes.** London: Taylor & Francis, 2002. p. 1-30.

DE MAJNIK, J.; OGBONNAYA, F. C.; MOULLET, O.; LAGUDAH, E. S. The cre1 and cre3 nematode resistance genes are located at homeologous loci in the wheat genome. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 16, n. 12, p. 1129-1134, 2003.

DE MEUTTER, J.; TYTGAT, T.; VAN DER SCHUEREN, E.; SMANT, G.; SCHOTS, A.; COOMANS, A.; VAN MONTAGU, M.; GHEYSEN, G. Cloning of two endoglucanase genes from *Heterodera schachtii*. **Medical Faculty Landbouww University of Gent**, v. 63, n. 3, p. 619-623, 1998.

DEMAIN, A. L.; VAISHNAV, P. Involvement of nitrogen-containing compounds in beta-lactain biosynthesis and its control. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 26, n. 2, p. 67-82, 2006.

DIXON, R. A. Natural products and plant disease resistance. **Nature**, v. 411, p. 843-847, 2001.

DJIAN-CAPORALINO, C.; PIJAROWSKI, L.; FAZARI, A.; SAMSON, M.; GAVEAU, L.; O'BYRNE, C.; LEFEBVRE, V.; CARANTA, C.; PALLOIX, A.; ABAD, P. High-resolution genetic mapping of pepper (*Capsicum annuum* L.) resistance loci Me3 and Me4 conferring heat-stable resistance root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 103, p. 592-600, 2001.

DOYLE, E. A.; LAMBERT, K. N. Cloning and characterization of an esophageal-gland-specific pectate lyase from the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 15, n. 6, p. 549-556, 2002.

DOYLE, E. A.; LAMBERT, K. N. *Meloidogyne javanica* chorismate mutase 1 alters plant cell development. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 16, n. 2, p. 123-131, 2003.

DUAN, Y. P.; CASTANEDA, A.; ZHAO, G.; ERDOS, G.; GABRIEL, D. W. Expression of a single, host-specific, bacterial pathogenicity gene in plant cells elicits division, enlargement, and cell death. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 12, p. 556-560, 1999.

EDDAOUI, M.; AMMATI, M.; RAMMAH, M. Identification of the resistance breaking populations of *Meloidogyne* on tomatoes in Morocco and their effect on new sources of resistance. **Fundamental Applied Nematology**, v. 20, p. 285-289, 1997.

EHWAETI, M. E.; FARGETTE, M.; PHILLIPS, M. S.; TRUDGILL, D. L. Host status differences and their relevance to damage by *Meloidogyne incognita*. **Nematology**, v. 1, p. 421-432, 1999.

ENGEL, S.; JENSEN, P. R.; FENICAL, W. Chemical ecology of marine microbial defense. **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, n. 10, p. 1971-1985, 2002.

ERNST, K.; KUMAR, A.; KRISELEIT, D.; KLOOS, D. U.; PHILLIPS, M. S.; GANAL, M. W. The broad-spectrum potato cyst nematode resistance gene (Hero) from tomato is the only member of a large gene family of NBS-LRR genes with an unusual amino acid repeat in the LRR region. **Plant Journal**, v. 31, n. 2, p. 127-136, 2002.

ESMENJAUD, D.; MINOT, J. C.; VOISIN, R.; BONNET, A.; SALESSES, G. Inheritance of resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne arenaria* in *Myrobalan plum*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 92, p. 873-879, 1996.

FANELLI, E.; DI VITO, M.; JONES, J. T.; DE GIORGI, C. Analysis of chitin synthase function in a plant parasitic nematode, *Meloidogyne artiellia*, using RNAi. **Gene**, v. 349, p. 87-95, 2005.

FAVERY, B.; LECOMTE, P.; GIL, N.; BECHTOLD, N.; BOUCHEZ, D.; DALMASSO, A.; ABAD, P. RPE, a plant gene involved in early developmental steps of nematode feeding cells. **Embo Journal**, v. 17, n. 23, p. 6799-6811, 1998.

FERREIRA, J. T. B.; CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C. Produtos naturais no controle de insetos. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2001.

GAL, T. Z.; AUSSENBERG, E. R.; BURDMAN, S.; KAPULNIK, Y.; KOLTAI, H. Expression of a plant expansin is involved in the establishment of root knot nematode parasitism in tomato. **Planta**, v. 224, n. 1, p. 155-162, 2006.

GAO, B.; ALLEN, R.; MAIER, T.; DAVIS, E. L.; BAUM, T. J.; HUSSEY, R. S. Identification of a new beta-1,4-endoglucanase gene expressed in the esophageal subventral gland cells of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 34, n. 1, p. 12-15, 2002.

GAO, B. L.; ALLEN, R.; MAIER, T.; DAVIS, E. L.; BAUM, T. J.; HUSSEY, R. S. Identification of putative parasitism genes expressed in the esophageal gland cells of the soybean cyst nematode *Heterodera glycines*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 14, n. 10, p. 1247-1254, 2001.

GHEYSEN, G.; FENOLL, C. Gene expression in nematode feeding sites. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 191-219, 2002.

GILBERT, J. C.; MCGUIRE, D. C. Inheritance of resistance to severe root-knot from *Meloidogyne incognita* in commercial type tomatoes. **Journal of American Society for Horticultural Science**, v. 68, p. 437-442, 1956.

GODDIJN, O. J.; LINDSEY, K.; VAN DER LEE, F. M.; KLAP, J. C.; SIJMONS, P. C. Differential gene expression in nematode-induced feeding structures of transgenic plants harbouring promoter-gusA fusion constructs. **Plant Journal**, v. 4, n. 5, p. 863-873, 1993.

GOELLNER, M.; SMANT, G.; DE BOER, J. M.; BAUM, T. J.; DAVIS, E. L. Isolation of beta-1,4-endoglucanase genes from *Globodera tabacum* and their expression during parasitism. **Journal of Nematology**, v. 32, n. 2, p. 154-165, 2000.

GOELLNER, M.; WANG, X.; DAVIS, E. L. Endo-beta-1,4-glucanase expression in compatible plant-nematode interactions. **Plant Cell**, v. 13, n. 10, p. 2241-2255, 2001.

GOVERSE, A.; BIESHIEUVEL, J.; WIJERS, G. J.; GOMMERS, F. J.; BAKKER, J.; SCHOTS, A.; HELDER, J. In planta monitoring of the activity of two constitutive promoters, CaMV 35S and TR22 , in developing feeding cells induced by *Globodera rostochiensis* using green fluorescent protein in combination with confocal laser scanning microscopy. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 52, p. 275-284, 1998.

GURR, S. J.; MCPHERSON, M. J.; SCOLLAN, C.; ATKINSON, H. J.; BOWLES, D. J. Gene expression in nematode-infected plant roots.

Molecular and General Genetics, v. 226, n. 3, p. 361-366, 1991.

HALL, R. D. Plant metabolomics: from holistic hope, to hype, to hot topic. **New Phytologist**, v. 169, p. 453-468, 2006.

HENDY, H.; DALMASSO, A.; CARDIN, M. C. Differences in resistant *Capsicum annuum* attacked by different *Meloidogyne* species. **Nematologica**, v. 31, p. 72-78, 1985a.

HENDY, H.; POCHARD, E.; DALMASSO, A. Transmission héréditaire de la résistance aux nématodes *Meloidogyne chitwood* (Tylenchida) portée par deux lignées de *Capsicum annuum* L.: étude de descendances homozygotes issues d'androgene'se. **Agronomie**, v. 5, p. 93-100, 1985b.

HERMSMEIER, D.; HART, J. K.; BYZOVA, M.; RODERMEL, S. R.; BAUM, T. J. Changes in mRNA abundance within *Heterodera schachtii*-infected roots of *Arabidopsis thaliana*. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 13, n. 3, p. 309-315, 2000.

HERMSMEIER, D.; MAZAREI, M.; BAUM, T. J. Differential display analysis of the early compatible interaction between soybean and the soybean cyst nematode. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 11, p. 1258-1263, 1998.

HO, J. Y.; WEIDE, R.; MA, H. M.; VAN WORDRAGEN, M. F.; LAMBERT, K. N.; KOORNNEEF, M.; ZABEL, P.; WILLIAMSON, V. M. The root-knot nematode resistance gene (*Mi*) in tomato: construction of a molecular linkage map and identification of dominant cDNA markers in resistant genotypes. **Plant Journal**, v. 2, n. 6, p. 971-982, 1992.

HUANG, G.; ALLEN, R.; DAVIS, E. L.; BAUM, T. J.; HUSSEY, R. S. Engineering broad root-knot resistance in transgenic plants by RNAi silencing of a conserved and essential root-knot nematode parasitism gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 39, p. 14302-14306, 2006.

HUANG, G.; DONG, R.; ALLEN, R.; DAVIS, E. L.; BAUM, T. J.; HUSSEY, R. S. Developmental expression and molecular analysis of two *Meloidogyne incognita* pectate lyase genes. **International Journal for Parasitology**, v. 35, n. 6, p. 685-692, 2005.

HUANG, G. Z.; GAO, B. L.; MAIER, T.; ALLEN, R.; DAVIS, E. L.; BAUM, T. J.; HUSSEY, R. S. A profile of putative parasitism genes expressed in the esophageal gland cells of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 16, n. 5, p. 376-381, 2003.

HUSSEY, R.; DAVIS, E.; BAUM, T. Secrets in secretions: genes that control nematode parasitism of plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 14, n. 3, p. 183-194, 2002.

INSUNZA, V.; ABALLAY, E.; MACAYA, J. Nematicidal activity of aqueous plant extract on *Xiphinema index*. **Nematological Mediterranean**, v. 29, p. 35-40, 2001.

ITHAL, N.; RECKNOR, J.; NETTLETON, D.; HEARNE, L.; MAIER, T.; BAUM, T. J.; MITCHUM, M. G. Parallel genome-wide expression profiling of host and pathogen during soybean cyst nematode infection of soybean. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 20, n. 3, p. 293-305, 2007a.

ITHAL, N.; RECKNOR, J.; NETTLETON, D.; MAIER, T.; BAUM, T. J.; MITCHUM, M. G. Developmental transcript profiling of cyst nematode feeding cells in soybean roots. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 20, n. 5, p. 510-525, 2007b.

JAMMES, F.; LECOMTE, P.; DE ALMEIDA-ENGLER, J.; BITTON, F.; MARTIN-MAGNIETTE, M. L.; RENOU, J. P.; ABAD, P.; FAVERY, B. Genome-wide expression profiling of the host response to root-knot nematode infection in *Arabidopsis*. **Plant Journal**, v. 44, n. 3, p. 447-458, 2005.

JARQUIN-BARBERENA, H.; DALMASSO, A.; DE GUIRAN, G.; CARDIN, M. C. Acquired virulence in the plant parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. **Review of Nematology**, v. 14, p. 299-303, 1991.

JAUBERT, S.; LAFFAIRE, J. B.; ABAD, P.; ROSSO, M. N. A polygalacturonase of animal origin isolated from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **FEBS Letter**, v. 522, n. 1-3, p. 109-112, 2002a.

JAUBERT, S.; LAFFAIRE, J. B.; LEDGER, T. N.; ESCOUBAS, P.; AMRI, E. Z.; ABAD, P.; ROSSO, M. N. Comparative analysis of two 14-3-3 homologues and their expression pattern in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **International Journal for Parasitology**, v. 34, n. 7, p. 873-880, 2004.

JAUBERT, S.; LEDGER, T. N.; LAFFAIRE, J. B.; PIOTTE, C.; ABAD, P.; ROSSO, M. N. Direct identification of stylet secreted proteins from root-knot nematodes by a proteomic approach. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 121, n. 2, p. 205-211, 2002b.

JAUBERT, S.; MILAC, A. L.; PETRESCU, A. J.; DE ALMEIDA-ENGLER, J.; ABAD, P.; ROSSO, M. N. In planta secretion of a calreticulin by migratory and sedentary stages of root-knot nematode. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 18, n. 12, p. 1277-1284, 2005.

JEPSON, B. S. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Wallingford, UK; CAB International., 1987.

KALOSHIAN, I.; WILLIAMSON, V. M.; MIYAO, G.; LAWN, D. A.; WESTERDAHL, B. B. Resistance-breaking nematodes identified in California tomatoes. **Californian Agriculture**, v. 50, p. 18-19, 1996.

KHAN, R.; ALKHAROUF, N.; BEARD, H.; MCDONALD, M.; CHOUIKHA, I.; MEYER, S.; GREFENSTETTE, J.; KNAP, H.; MATTHEWS, B. Microarray analysis of gene expression in soybean roots susceptible to the soybean cyst nematode two days post invasion. **Journal of Nematology**, v. 36, p. 241-248, 2004.

KLINK, V. P.; ALKHAROUF, N.; MACDONALD, M.; MATTHEWS, B. Laser capture microdissection (LCM) and expression analyses of *Glycine max* (soybean) syncytium containing root regions formed by the plant pathogen *Heterodera glycines* (soybean cyst nematode). **Plant Molecular Biology**, v. 59, n. 6, p. 965-979, 2005.

KLINK, V. P.; OVERALL, C. C.; MATTHEWS, B. F. Developing a systems biology approach to study disease progression caused by *Heterodera glycines* in *Glycine max*. **Gene Regulation and Systems Biology**, v. 2, p. 17-33, 2007.

KOLTAI, H.; DHANDAYDHAM, M.; OPPERMAN, C.; THOMAS, J.; BIRD, D. Overlapping plant signal transduction pathways induced by a parasitic nematode and a rhizobial endosymbiont. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 14, n. 10, p. 1168-1177, 2001.

LAGUDAH, E. S.; MOULLET, O.; APPELS, R. Map-based cloning of a gene sequence encoding a nucleotide-binding domain and a leucine-rich region at the Cre3 nematode resistance locus of wheat. **Genome**, v. 40, n. 5, p. 659-665, 1997.

LAMBERT, K. N.; ALLEN, K. D.; SUSSEX, I. M. Cloning and characterization of an esophageal-gland-specific chorismate mutase from the phytoparasitic nematode *Meloidogyne javanica*. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 12, n. 4, p. 328-336, 1999.

LILLEY, C. J.; BAKHETIA, M.; CHARLTON, W. L.; URWIN, P. E. Recent progress in the development of RNA interference for plant parasitic nematodes. **Molecular Plant Pathology**, v. 8, n. 5, p. 701-711, 2007.

LORIEUX, M.; REVERSAT, G.; GARCIA DIAZ, S. X.; DENANCE, C.; JOUVENET, N.; ORIEUX, Y.; BOURGER, N.; PANDO-BAHUON, A.; GHESQUIERE, A. Linkage mapping of Hsa-1(Og), a resistance gene of African rice to the cyst nematode, *Heterodera sacchari*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 107, n. 4, p. 691-696, 2003.

MARASCHIN, M.; VERPOORTE, R. Engenharia do metabolismo secundário. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 23, p. 24-28, 1999.

MARBAN-MENDONZA, N.; JEYAPRAKASH, A.; JANSON, H. B.; DAMON, J. R.A.; ZUCKERMAN, B. M. Control of root-knot nematodes on tomato by lectins. **Journal of Nematology**, v. 19, p. 331-335, 1987.

MCCARTER, J. P.; MITREVA, M. D.; MARTIN, J.; DANTE, M.; WYLIE, T.; RAO, U.; PAPE, D.; BOWERS, Y.; THEISING, B.; MURPHY, C. V.; KLOEK, A. P.; CHIAPELLI, B. J.; CLIFTON, S. W.; BIRD, D. M.; WATERSTON, R. H. Analysis and functional classification of transcripts from the nematode *Meloidogyne incognita*. **Genome Biology**, v. 4, n. 4, R26, 2003.

MEKSEM, K.; PANTAZOPOULOS, P.; NJITI, V. N.; HYTEN, L. D.; ARELLI, P. R.; LIGHTFOOT, D. A. 'Forest' resistance to the soybean cyst nematode is bigenic: saturation mapping of the Rhg1 and Rhg4 loci. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 103, n. 5, p. 710-717, 2001.

MILLIGAN, S. B.; BODEAU, J.; YAGHOOBI, J.; KALOSHIAN, I.; ZABEL, P.; WILLIAMSON, V. M. The root knot nematode resistance gene Mi from

tomato is a member of the leucine zipper, nucleotide binding, leucine-rich repeat family of plant genes. **Plant Cell**, v. 10, n. 8, p. 1307-1319, 1998.

MITCHELL-OLDS, T.; BERGELSON, J. Biotic interactions. Genomics and coevolution. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 3, n. 4, p. 273-277, 2000.

MOLAN, A. L.; ALEXANDER , R.; BROOKAS, I. M.; MCNABB, W. C. Effects of sulla condensed tannins on the viability of three sheep gastrointestinal nematodes. **New Zealand Society of Animal Production**, v. 60, p. 21-25, 2000.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. Natural products as a source of new drugs over the period 1981-2002. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 1022-1037, 2003.

NIEBEL, A.; DE ALMEIDA ENGLER, J.; HEMERLY, A.; FERREIRA, P.; INZE, D.; VAN MONTAGU, M.; GHEYSEN, G. Induction of cdc2a and cyc1At expression in *Arabidopsis thaliana* during early phases of nematode-induced feeding cell formation. **Plant Journal**, v. 10, n. 6, p. 1037-1043, 1996.

NIEBEL, A.; DE ALMEIDA ENGLER, J.; TIRE, C.; ENGLER, G.; VAN MONTAGU, M.; GHEYSEN, G. Induction patterns of an extensin gene in tobacco upon nematode infection. **Plant Cell**, v. 5, n. 12, p. 1697-1710, 1993.

NOMBELA, G.; WILLIAMSON, V. M.; MUNIZ, M. The root-knot nematode resistance gene Mi-1.2 of tomato is responsible for resistance against the whitefly *Bemisia tabaci*. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 16, n. 7, p. 645-649, 2003.

PAAL, J.; HENSELEWSKI, H.; MUTH, J.; MEKSEM, K.; MENENDEZ, C. M.; SALAMINI, F.; BALLVORA, A.; GEBHARDT, C. Molecular cloning of the potato Gro1-4 gene conferring resistance to pathotype Ro1 of the root cyst nematode *Globodera rostochiensis*, based on a candidate gene approach. **Plant Journal**, v. 38, n. 2, p. 285-297, 2004.

PAGE, S. L.; BRIDGE, J. The African cotton-root nematode, *Meloidogyne acronea*; its pathogenicity and intra-generic infectivity. **Fundamental Applied Nematology**, v. 17, p. 67-73, 1994.

PARKER, J. E.; FEYS, B. J.; VAN DER BIEZEN, E. A.; NÖEL, L.; ARTS, N. Unravelling *R* gene-mediated resistance pathways in *Arabidopsis*. **Molecular Plant Pathology**, v. 1, p. 17-24, 2000.

PARKINSON, J.; MITREVA, M.; HALL, N.; BLAXTER, M.; MCCARTER, J. P. 400,000 nematode ESTs on the Net. **Trends in Parasitology**, v. 19, n. 7, p. 283-286, 2003.

PARKINSON, J.; MITREVA, M.; WHITTON, C.; THOMSON, M.; DAUB, J.; MARTIN, J.; SCHMID, R.; HALL, N.; BARRELL, B.; WATERSTON, R. H.; MCCARTER, J. P.; BLAXTER, M. L. A transcriptomic analysis of the phylum Nematoda. **Nature Genetics**, v. 36, n. 12, p. 1259-1267, 2004.

PLATT, H. M. **The phylogenetic systematics of free-living nematodes.** London: The Ray Society, 1999.

POPEIJUS, H.; OVERMARS, H.; JONES, J.; BLOK, V.; GOVERSE, A.; HELDER, J.; SCHOTS, A.; BAKKER, J.; SMANT, G. Degradation of plant cell walls by a nematode. **Nature**, v. 405, p. 36-37, 2000.

PUTHOFF, D. P.; NETTLETON, D.; RODERMEL, S. R.; BAUM, T. J. Arabidopsis gene expression changes during cyst nematode parasitism revealed by statistical analyses of microarray expression profiles. **Plant Journal**, v. 33, n. 5, p. 911-921, 2003.

PUZIO, P. S.; LAUSEN, J.; HEINEN, P.; GRUNDLER, F. M. Promoter analysis of pyk20, a gene from *Arabidopsis thaliana*. **Plant Science**, v. 157, n. 2, p. 245-255, 2000.

ROBERTS, P. A. Current status of the availability, development, and use of host plant resistance to nematodes. **Journal of Nematology**, v. 24, p. 213-227, 1992.

ROBERTS, P. A. Conceptual and practical aspects of variability in root-knot nematodes related to host plant resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 33, p. 199-221, 1995.

ROCHA, T. L.; EVARISTO, R. G. S.; SILVA, L. P.; SOUZA, D. S. L.; MARRA, B. M.; COSTA, P. H. A.; MAGALHÃES, J. C. C.; SILVA, M. C. M.; GROSSI-DE-SA, M. F. **Metabolômica:** aplicações e perspectivas. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Série Documentos, 189).

ROSSI, M.; GOGGIN, F. L.; MILLIGAN, S. B.; KALOSHIAN, I.; ULLMAN, D. E.; WILLIAMSON, V. M. The nematode resistance gene Mi of tomato confers resistance against the potato aphid. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 17, p. 9750-9754, 1998.

ROSSO, M. N.; FAVERY, B.; PIOTTE, C.; ARTHAUD, L.; DE BOER, J. M.; HUSSEY, R. S.; BAKKER, J.; BAUM, T. J.; ABAD, P. Isolation of a cDNA encoding a beta-1,4-endoglucanase in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and expression analysis during plant parasitism. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 12, n. 7, p. 585-591, 1999.

RUBIO-CABETAS, M. J.; LECOULS, A. C.; SALESSES, G.; BONNET, A.; MINOT, J. C.; VOISIN, R.; ESMENJAUD, D. Evidence of a new gene for high resistance to *Meloidogyne* spp. in *Myrobalan plum* (*Prunus cerasifera*). **Plant Breeding**, v. 117, p. 567-571, 1998.

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

SASSER, J. N.; EISENBACK, J. D.; CARTER, C. C. The international Meloidogyne project - its goals and achievements. **Annual Review of Phytopathology**, v. 21, p. 271-288, 1983.

SCHOLL, E. H.; BIRD, D. M. Resolving tylenchid evolutionary relationships through multiple gene analysis derived from EST data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 36, n. 3, p. 536-545, 2005.

SCHOLL, E. H.; THORNE, J. L.; MCCARTER, J. P.; BIRD, D. M. Horizontally transferred genes in plant-parasitic nematodes: a high-throughput genomic approach. **Genome Biology**, v. 4, n. 6, R39, 2003.

SEAH, S.; YAGHOOBI, J.; ROSSI, M.; GLEASON, C. A.; WILLIAMSON, V. M. The nematode-resistance gene, Mi-1, is associated with an inverted chromosomal segment in susceptible compared to resistant tomato. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 108, n. 8, p. 1635-1642, 2004.

SEMBLAT, J. P.; BONGIOVANNI, M.; WAJNBERG, E.; DALMASSO, A.; ABAD, P.; CASTAGNONE-SERENO, P. Virulence and molecular diversity of parthenogenetic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. **Heredity**, v. 84, p. 81-89, 2000.

SHINGLES, J.; LILLEY, C. J.; ATKINSON, H. J.; URWIN, P. E. *Meloidogyne incognita*: molecular and biochemical characterisation of a cathepsin L cysteine proteinase and the effect on parasitism following RNAi. **Experimental Parasitology**, v. 115, n. 2, p. 114-120, 2007.

SMANT, G.; STOKKERMANS, J. P.; YAN, Y.; DE BOER, J. M.; BAUM, T. J.; WANG, X.; HUSSEY, R. S.; GOMMERS, F. J.; HENRISSAT, B.; DAVIS, E. L.; HELDER, J.; SCHOTS, A.; BAKKER, J. Endogenous cellulases in animals: isolation of beta-1, 4-endoglucanase genes from two species of plant-parasitic cyst nematodes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 9, p. 4906-4911, 1998.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology.** California: The Benjamin: Cummings, 2002.

THURAU, T.; KIFLE, S.; JUNG, C.; CAI, D. The promoter of the nematode resistance gene Hs1pro-1 activates a nematode-responsive and feeding site-specific gene expression in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and *Arabidopsis thaliana*. **Plant Molecular Biology**, v. 52, n. 3, p. 643-660, 2003.

TRIANTAPHYLLOU, A. C.; SASSER, J. N. Variations in perineal patterns and host specificity of *Meloidogyne incognita*. **Phytopathology**, v. 50, p. 724-735, 1960.

TRUDGILL, D. L. Origins of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp. Nematoda) in relation to their cultural control. **Phytoparasitica**, v. 23, p. 191-194, 1995.

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

TYTGAT, T.; VERCAUTEREN, I.; VANHOLME, B.; DE MEUTTER, J.; VANHOUTTE, I.; GHEYSEN, G.; BORGONIE, G.; COOMANS, A.; GHEYSEN, G. An SXP/RAL-2 protein produced by the subventral pharyngeal glands in the plant parasitic root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Parasitology Research**, v. 95, n. 1, p. 50-54, 2005.

TZORTZAKAKIS, E. A.; GOWEN, S. R. Occurrence of a resistance breaking pathotype of *Meloidogyne javanica* on tomatoes in Crete, Greece. **Fundamental Applied Nematology**, v. 19, p. 283-288, 1996.

UEHARA, T.; KUSHIDA, A.; MOMOTA, Y. PCR-based cloning of two beta-1,4-endoglucanases from the root-lesion nematode *Pratylenchus penetrans*. **Nematology**, v. 3, n. 4, p. 335-341, 2001.

UEHARA, T.; SUGIYAMA, S.; MASUTA, C. Comparative serial analysis of gene expression of transcript profiles of tomato roots infected with cyst nematode. **Plant Molecular Biology**, v. 63, n. 2, p. 185-194, 2007.

URWIN, P. E.; LILLEY, C. J.; ATKINSON, H. J. Ingestion of double-stranded RNA by preparasitic juvenile cyst nematodes leads to RNA interference. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 15, n. 8, p. 747-752, 2002.

VAN DER EYCKEN, W.; DE ALMEIDA ENGLER, J.; INZE, D.; VAN MONTAGU, M.; GHEYSEN, G. A molecular study of root-knot nematode-induced feeding sites. **Plant Journal**, v. 9, n. 1, p. 45-54, 1996.

VAN DER VOORT, J. N. A. M. R.; JANSSEN, G. J. W.; OVERMARS, H.; VAN ZANDVOORT, P. M.; VAN NOREL, A.; SCHOLTEN, O. E.; JANSSEN, R.; BAKKER, J. Development of a PCR-based selection assay for root-knot nematode resistance (Rmc1) by a comparative analysis of the *Solanum bulbocastanum* and *S. tuberosum* genome. **Euphytica**, v. 106, n. 2, p. 187-195, 1999.

VAN DER VOSSEN, E. A.; VAN DER VOORT, J. N.; KANYUKA, K.; BENDAHMANE, A.; SANDBRINK, H.; BAULCOMBE, D. C.; BAKKER, J.; STIEKEMA, W. J.; KLEIN-LANKHORST, R. M. Homologues of a single resistance-gene cluster in potato confer resistance to distinct pathogens: a virus and a nematode. **Plant Journal**, v. 23, n. 5, p. 567-576, 2000.

VANHOLME, B.; DE MEUTTER, J.; TYTGAT, T.; VAN MONTAGU, M.; COOMANS, A.; GHEYSEN, G. Secretions of plant-parasitic nematodes: a molecular update. **Gene**, v. 332, p. 13-27, 2004.

VEECH, J. A. Phytoalexins and their role in the resistance of plants to nematodes. **Journal of Nematology**, v. 14, p. 2-9, 1982.

VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. **Vistas on nematology**. Florida: [s.n.], 1997.

VERCAUTEREN, I.; VAN DER SCHUEREN, E.; VAN MONTAGU, M.; GHEYSEN, G. *Arabidopsis thaliana* genes expressed in the early compatible interaction with root-knot nematodes. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 14, n. 3, p. 288-299, 2001.

VEREMIS, J. C.; VAN HEUSDEN, A. W.; ROBERTS, P. A. Mapping a novel heat-stable resistance to *Meloidogyne* in *Lycopersicon peruvianum*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 98, p. 274-280, 1999.

VERONICO, P.; JONES, J.; DI VITO, M.; DE GIORGI, C. Horizontal transfer of a bacterial gene involved in polyglutamate biosynthesis to the plant-parasitic nematode *Meloidogyne artiellia*. **FEBS Letter**, v. 508, n. 3, p. 470-474, 2001.

VOS, P.; SIMONS, G.; JESSE, T.; WIJBRANDI, J.; HEINEN, L.; HOGERS, R.; FRIJTERS, A.; GROENENDIJK, J.; DIERGAARDE, P.; REIJANS, M.; FIERENS-ONSTENK, J.; DE BOTH, M.; PELEMAN, J.; LIHARSKA, T.; HONTELEZ, J.; ZABEAU, M. The tomato Mi-1 gene confers resistance to both root-knot nematodes and potato aphids. **Nature Biotechnology**, v. 16, n. 13, p. 1365-1369, 1998.

WALLA, R. K.; NANDAL, S. N.; BHATTI, D. S. Nematicidal efficacy of plant leaves and *Paecillomyces lilacinus*, alone or in combination, in controlling *Meloydogyne incognita* on okra and tomato. **Nematological Mediterranean**, v. 27, p. 3-8, 1999.

WANG, X.; MITCHUM, M. G.; GAO, B.; LI, C.; DIAB, H.; BAUM, T. J.; HUSSEY, R. S.; DAVIS, E. L. A parasitism gene from a plant-parasitic nematode with function similar to CLAVATA3/ESR (CLE) of *Arabidopsis thaliana*. **Molecular Plant Pathology**, v. 6, p. 187-191, 2005.

WEERASINGHE, R. R.; BIRD, D. M.; ALLEN, N. S. Root-knot nematodes and bacterial Nod factors elicit common signal transduction events in *Lotus japonicus*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 8, p. 3147-3152, 2005.

WHITE, F. F.; YANG, B.; JOHNSON, L. B. Prospects for understanding avirulence gene function. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 3, n. 4, p. 291-298, 2000.

WILLIAMSON, V. M.; GLEASON, C. A. Plant-nematode interactions. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 6, n. 4, p. 327-333, 2003.

WILLIAMSON, V. M.; KUMAR, A. Nematode resistance in plants: the battle underground. **Trends in Genetics**, v. 22, n. 7, p. 396-403, 2006.

YADAV, B. C.; VELUTHAMBI, K.; SUBRAMANIAM, K. Host-generated double stranded RNA induces RNAi in plant-parasitic nematodes and protects the host from infection. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 148, n. 2, p. 219-222, 2006.

YAGHOOBI, J.; YATES, J. L.; WILLIAMSON, V. M. Fine mapping of the nematode resistance gene Mi-3 in *Solanum peruvianum* and construction of a *S. lycopersicum* DNA contig spanning the locus. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 274, n. 1, p. 60-69, 2005.

YAN, Y.; SMANT, G.; DAVIS, E. Functional screening yields a new beta-1,4-endoglucanase gene from *Heterodera glycines* that may be the product of recent gene duplication. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 14, n. 1, p. 63-71, 2001.

YOUNG, N. D. The genetic architecture of resistance. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 3, n. 4, p. 285-290, 2000.

ZHANG, X. D.; CALLAHAN, F. E.; JENKINS, J. N.; MA, D. P.; KARACA, M.; SAHA, S.; CREECH, R. G. A novel root-specific gene, MIC-3, with increased expression in nematode-resistant cotton (*Gossypium hirsutum* L.) after root-knot nematode infection. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1576, n. 1/2, p. 214-218, 2002.

Molecular Plant-Nematode Interactions

Abstract

The endoparasitic sedentary phytonematodes of genera Heterodera, Globodera (known as cyst nematodes, CN) and Meloidogyne (the root-knot nematodes, RKN) are major crop phytopathogens, causing estimated losses of US$ 125 billion annually in the world. These plant-parasitic nematodes share some parasitism mechanisms, which ensure host-tissue invasion and host-defense evasion. The establishment and maintenance of the sophisticated molecular plant-nematode interaction are based upon several secreted molecules that access plant cellular processes, transforming them in enlarged, multinucleate, and metabolically active feeding cells. Nematicides applications are usually expensive, inefficient and environmentally hazardous. Crop rotation, bio-control agents and/or host resistance have not been successfully deployed against nematodes, except in some rare cases. Considering all limitations of nematode control, considerable attention have been given to the study of the molecular plant-nematode interaction, to obtain a comprehensive understanding of this patosystem, and to generate efficient alternatives to nematode control. The cultivation of resistant plants is the best control against nematodes, but this strategy is dependent on the existence and mapping of natural resistance genes, witch trigger hypersensitive response, for subsequent genetic breeding, limited to plants evolutively closely related. Other

resistance mechanism observed is the production and accumulation of secondary metabolites with antimicrobial, nematicide and insecticide activities. Hundreds of plant genes that are differently expressed during nematode parasitism are already characterized, shading light on this patosystem at a molecular level. Despite several techniques that have been used for the study of plant-pathogen interaction, recent researches with inhibition of nematode gene expression, using RNA interference, have demonstrate the enormous potential of transgenic plants resistant to phytonematodes.

Index terms: *Meloidogyne; Heterodera; Globodera; metabólitos secundários; Genes de resistência; genes de parasitismo; genômica funcional; silenciamento de genes.*

Siglas freqüentes no texto

EST: Etiqueta de seqüência expressa

IMPN: Interação molecular planta-nematóide

NFG: Nematóide formador de galha

NFC: Nematóide formador de cisto

qRT-PCR: PCR em tempo real quantitativo

RNAi: Interferência mediada por RNA dupla fita

THG: Transferência horizontal de genes