

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA  
DOUTORADO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA**

**MARIA DO CARMO LOPES DA SILVA**

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Meloidogyne* EM  
ÁREAS AGRÍCOLAS E DISPERSÃO DE *M. enterolobii* EM POMARES DE  
GOIABEIRAS NO ESTADO DO CEARÁ**

**FORTALEZA**

**2014**

MARIA DO CARMO LOPES DA SILVA

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Meloidogyne* EM  
ÁREAS AGRÍCOLAS E DISPERSÃO DE *M. enterolobii* EM POMARES DE  
GOIABEIRAS NO ESTADO DO CEARÁ**

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós- Graduação em Agronomia/ Fitotecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Agronomia/Fitotecnia.

Área de concentração: Fitotecnia.

Orientadora: Profa. Dra. Carmem Dolores Gonzaga Santos

FORTALEZA

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

- 
- S581i Silva, Maria do Carmo Lopes da.  
Identificação e caracterização de espécies de *Meloidogyne* em áreas agrícolas e dispersão de *M. enterolobii* em pomares de goiabeiras no Estado do Ceará / Maria do Carmo Lopes da Silva. – 2014.  
107 f. il., color. enc. : 30 cm.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, Fortaleza, 2014.  
Área de concentração: Fitotecnia.  
Orientação: Profa. Dra. Carmem Dolores Gonzaga Santos.
1. Nematóide de galha. 2. Isoenzimas. 3. Esterases. I. Título.


MARIA DO CARMO LOPES DA SILVA

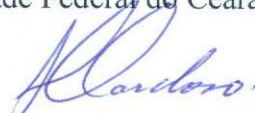
**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Meloidogyne* EM  
ÁREAS AGRÍCOLAS E DISPERSÃO DE *M. enterolobii* EM POMARES DE  
GOIABEIRAS NO ESTADO DO CEARÁ**

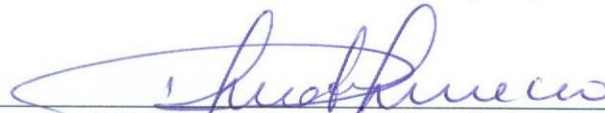
Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Agronomia/Fitotecnia.

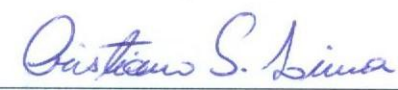
Aprovada em: 25/02/2014


BANCA EXAMINADORA

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carmem Dolores Gonzaga Santos (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

  
Prof. Phd. José Emilson Cardoso (Conselheiro)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

  
Prof. Dr. Renato Innecco (Conselheiro)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

  
Prof. Dr. Cristiano Souza Lima (Conselheiro)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

  
Prof. Dr. Gilson Soares da Silva (Conselheiro)  
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

## DEDICATÓRIA

A Deus,

Que sempre me deu força, determinação e a perseverança para prosseguir com meus ideais e trabalhos.

Aos meus pais,

Francisca Rita e João Soares que me deram amor, educação, apoio, ensinamentos, confiança e força durante todas as etapas da minha vida.

Ao meu filho,

Eduardo Lopes pelo verdadeiro amor, carinho e pela compreensão da minha ausência para a realização e conclusão deste curso.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal do Ceará (UFC) e ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado no início do curso.

A Prof<sup>ª</sup> Dra. Carmem Dolores Gonzaga Santos, pela orientação, ensinamento, incentivo, convivência, paciência, amizade e por ter acreditado em mim e me proporcionado muitos conhecimentos, durante o decorrer deste curso.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia/Agronomia da Universidade Federal do Ceará, pelos ensinamentos agronômicos transmitidos.

Aos membros da banca de defesa, Prof.<sup>o</sup> Dr. Gilson Silva Soares, Dr. Renato Inneco, Phd. José Emilson Cardoso, Dr. Cristiano Souza Lima, pelas valiosas sugestões e contribuições para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos amigos Aline Kelly, Ana Kelly, Aurilene, Erika, Everton, Fabiana, Graziela, Laianny, Lainara, Nádia, Ravena, pela ajuda, pelas horas de estudos, pelas brincadeiras e pela valiosa amizade.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização deste trabalho.  
O meu singelo Obrigado a todos vocês!

## RESUMO

Os nematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* estão entre os maiores agentes causadores de danos em plantas, pois possuem ampla distribuição geográfica e são de difícil controle. Considerando que as informações atualizadas sobre as espécies de *Meloidogyne* afetando plantas em áreas de produção agrícola ainda são escassas no Estado do Ceará, conduziu-se a presente pesquisa com os seguintes objetivos: identificar espécies e raças de *Meloidogyne* que ocorrem nas diferentes microrregiões do Estado do Ceará e identificar hospedeiras de *M. enterolobii* em pomares de goiabeira. Cento e doze amostras de plantas infestadas foram coletadas em 29 municípios em áreas produtoras do estado pertencentes a 13 diferentes microrregiões. Verificou-se que das 112 populações obtidas nas coletas, 46 apresentaram fenótipos típicos de *M. enterolobii*, 27 de *M. incognita*, 15 de *M. javanica*, cinco de *M. arenaria*, uma de *M. hapla*. Seis populações apresentaram fenótipos de esterese distintos daqueles conhecidos para as espécies de *Meloidogyne* já relatadas no Brasil. Na determinação das raças fisiológicas, foram encontradas as raças 2 e 3 para *M. incognita*, a raça 1 para *M. arenaria* e a raça 2 para *M. javanica*. As seguintes associações encontradas neste trabalho não foram ainda mencionadas podendo ser os primeiros relatos no estado: *M. incognita* em acelga (*Beta vulgaris* var. *cicla* L.), beterraba (*B. vulgaris* L.), pimenta de cheiro (*Capsicum chinensi* Jacq.) e umbu-cajá (*Spondia tuberosa* x *S. mombim*); *M. javanica* em botão de ouro (*Siegesbeckia orientalis* L.), cajá (*S. mombim* L.), papaconha (*Hybanthus ipecacuanha* (L.) Oken.) e quiabo (*Abelmoschus esculentus* L.); *M. arenaria* em maria-sem-vergonha (*Impatiens walleriana* L.), noni (*Morinda citrifolia* L.) e pingo de ouro (*Duranta repens* L. var. *aurea*); *M. hapla* em roseira (*Rosa* sp.). A espécie *M. enterolobii* foi identificada em todas as amostras de raízes de goiabeira coletadas em pomares distribuídos em 13 municípios do estado. Além da goiabaeira, *M. enterolobii* foi constatada também em acerola (*Malpighia glabra* L.), batata doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam), berinjela (*Solanum melongena* L.), cactus (*Cactus* sp.), falsa serralha (*Emilia fosbergii* Nicolson), *Hypericum* sp, ingá (*Inga edulis* Mart.), mamão (*Carica papaya* L.), manjerição (*Ocimum basilicum* L.), maria-pretinha (*Solanum americanum* Mill), jurubeba (*S. paniculatum* L.), palma (*Gladiolus* sp.) e pimenta tabasco (*C. frutescens* L.), associações estas relatadas pela primeira vez no Estado do Ceará. A espécie *M. enterolobii* estava presente em 52% dos municípios e em 77% das microrregiões visitadas enquanto que *M. incognita* e *M. javanica* foram constatadas em 35% e 31% dos

municípios, respectivamente, ambas em 46% das microrregiões visitadas. Este estudo vem contribuir na atualização das informações sobre a ocorrência de espécies de *Meloidogyne* nas principais regiões produtoras do Estado do Ceará.

Palavra chave: Nematóide das galhas. Isoenzima. Esterase. Identificação de espécies.



## ABSTRACT

The nematodes from the genus *Meloidogyne* are the most important causal agents of plant damages considering that they have a large geographical distribution and they are difficult to be controlled. Considering that the actual information about species from the genus *Meloidogyne* infecting plants in agriculture areas are still short in the State of Ceará, the present research was developed with the following objectives: identify *Meloidogyne* species and races which occur in the different micro-regions from the State of Ceará and identify the natural hosts for *M. enterolobii* in guava (*Pisidium guajava*) orchards. A hundred and twelve plants with gall symptoms in the roots were collected from producing areas of 29 counties including 13 micro-regions from the State of Ceará. It was observed that 112 nematode populations collected from infected plants, 46 presented phenotype typical of *M. enterolobii*, 27 of *M. incognita*, 15 of *M. javanica*, five of *M. arenaria* and one of *M. hapla*. Six nematode populations presented esterase phenotype distinct from those known for the *Meloidogyne* species already described in Brazil. In the physiologic race determination it was found races 2 and 3 of *M. incognita*, and race 1 of *M. arenaria* and a race 2 of *M. javanica*. The following nematode associations found in the present paper were not yet mentioned which could demonstrate that they could be the first report in the State: *M. incognita* in *Beta vulgaris* var. *cicla* L., *B. vulgaris* L., *Capsicum chinensi* Jacq. and *Spondia tuberosa* x *S. mombim*; *M. javanica* in *Sieges beckiaorientalis* L., *S. mombim* L., *Hybanthus ipecacuanha* (L.) Oken. and *Abelmoschus esculentus* L.; *M. arenaria* in *Impatiens walleriana* L., *Morinda citrifolia* L. and *Duranta repens* L. var. *aurea*; and *M. hapla* in *Rosa* sp. *Meloidogyne enterolobii* was identified in all guava root samples collected in the orchards distributed in 13 counties from the State. Besides guava, *M. enterolobii* was also detected in *Malpighia glabra* L., *Ipomoea batatas* (L.) Lam, *Solanum melongena* L., *Cactus* sp., *Emilia fosbergii* Nicolson, *Hypericum* sp., *Inga edulis* Mart., *Carica papaya* L., *Ocimum basilicum* L., *Solanum americanum* Mill, *S. paniculatum* L., *Gladiolus* sp. and *C. frutescens* L. The present research is the first report about those plant nematode associations in the State of Ceará. The specie *M. enterolobii* was present in 52% of the counties and in 77% of the micro-regions visited, while *M. incognita* and *M. javanica* were detected only in 35% and 31% of the visited counties, respectively, and in 46% of the micro-region visited. The present research will contribute to update the scientific information about the occurrence of *Meloidogyne* species in the main agriculture producing regions from the State of Ceará.

**Keywords:** Gal nematodes. Izoenzyme. Esterase. Specie identification.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Polos irrigados do Estado do Ceará .....	18
Figura 2 - Comparação de padrões perineais das doze principais espécies de <i>Meloidogyne</i> . (A, B): <i>M. arenaria</i> ; (C, D): <i>M. hapla</i> ; (E, F): <i>M. incognita</i> ; (G, H): <i>M. javanica</i> ; (I): <i>M. acronea</i> ; (J): <i>M. chitwoodi</i> ; (K, L): <i>M. enterolobii</i> ; (M): <i>M. ethiopica</i> ; (N, O): <i>M. exigua</i> ; (P): <i>M. fallax</i> ; (Q, R): <i>M. graminicola</i> ; (S, T): <i>M. paranaensis</i> .....	34
Figura 3 – Resposta usual das quatro espécies mais comuns de <i>Meloidogyne</i> e suas raças ao teste hospedeiro diferencial da Carolina do Norte (HARTMAN & SASSER, 1985).....	37
Figura 4 - Mapa do Ceará com localização dos municípios e microrregiões onde foram coletadas as amostras de plantas infestadas para identificação de espécies de <i>Meloidogyne</i> no período de 2011 a 2013.....	56
Figura 5 - Raízes infestadas com <i>Meloidogyne</i> spp. coletadas de plantas em municípios do Ceará: (A) Acerola; (B) Banana; (C) Beterraba; (D) Tomate; (E) Hypericum sp. e (F) Roseira.....	57
Figura 6 – Principais fenótipos de esterase (EST) das espécies de <i>Meloidogyne</i> spp. mais comuns no Brasil.....	61
Figura 7 – Configurações perineais: (A) <i>Meloidogyne incognita</i> ; (B) <i>M. arenaria</i> ; (C) <i>M. enterolobii</i> ; (D) <i>M. javanica</i> ; (E) <i>Meloidogyne</i> spp.....	64
Figura 8 - Fenótipos de esterase de populações de <i>Meloidogyne</i> spp. provenientes de raízes de plantas coletadas em municípios do Ceará. Gel A) I2 = em ipê, I1= em cenoura; M= em mamão; J3= em banana; Gel B) A2= em pingo de ouro, J3= em malva branca e falsa serralha; Gel C) H1= em rosa, I1= em pimentão, M2= em acerola e hypericum; Gel D) J3= em quiabo, cajá e corda de viola, A2= em noni, M= em canapum e repolho; Gel E) M= em mamão, J3= em banana e botão de ouro; Gel F) I1= em beterraba, I2= em cajarana, M= em noni, J3= em mamão e banana.....	70
Figura 9 - Mapa do Ceará com a localização dos municípios onde foram coletadas amostras de raízes de goiabeira com galhas para identificação de espécies de <i>Meloidogyne</i> no período de 2011 a 2013.....	91
Figura 10 - (A) goiabeira apresentando crescimento reduzido no município de Acaraú; (B) planta com desfolhamento generalizado no município de Barbalha e (C) galhas em raízes próximas ao caule de goiabeira, no município de Acaraú.....	92
Figura 11 - Raízes de goiabeiras com galhas coletadas em pomares nos municípios do Ceará: (A) Cascavel; (B) Pacajus; (C) Acaraú; (D) Barbalha, (E) Crato e (F) Guaiuba.....	93
Figura 12 - Configurações perineais: de <i>M. enterolobii</i> provenientes de goiaba do município de Cascavel (A); <i>M. incognita</i> (B).....	97

Figura 13 - Fenótipos de esterase de populações de *Meloidogyne enterolobii* provenientes de raízes de plantas coletadas em municípios do Ceará. Gel A) M2 = em goiaba. Gel B) M2= em goiaba e jurubeba. Gel C) M2= em goiaba e falsa serralha. Gel D) M2= em jurubeba e falsa serralha.....99

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação das espécies vegetais coletadas nos diferentes municípios do Estado do Ceará para investigação de presença e identificação da espécie de <i>Meloidogyne</i> . Fortaleza-CE 2014.....	53
Tabela 2 - Espécies de <i>Meloidogyne</i> em associação com diferentes plantas hospedeiras em coletas em municípios do Estado do Ceará. Fortaleza-CE 2014.....	66
Tabela 3 - Comportamento de plantas indicadores e definição das raças fisiológicas de <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>M. javanica</i> , <i>M. arenaria</i> e <i>Meloidogyne</i> spp. encontradas associadas a plantas coletadas nos municípios do Ceará. Fortaleza-CE 2014.....	75
Tabela 4 - Relação de plantas hospedeiras de <i>Meloidogyne enterolobii</i> coletadas em pomares de municípios do Estado do Ceará. Fortaleza-CE 2014.....	98
Tabela 5 - Comportamento das plantas hospedeiras diferenciadoras inoculadas com <i>Meloidogyne enterolobii</i> provenientes de raízes de goiabeiras coletadas em diferentes municípios do Estado do Ceará. Fortaleza-CE 2014.....	102

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	16
2.1 Agricultura no Estado do Ceará.....	16
2.2 Fitonematoides.....	19
2.3 O gênero <i>Meloidogyne</i> .....	22
2.3.1 <i>Meloidogyne incognita</i> .....	25
2.3.2 <i>Meloidogyne javanica</i> .....	26
2.3.3 <i>Meloidogyne arenaria</i> .....	27
2.3.4 <i>Meloidogyne hapla</i> .....	28
2.3.5 <i>Meloidogyne enterolobii</i> .....	29
2.4 Ciclo de vida do <i>Meloidogyne</i> .....	30
2.5 Disseminação.....	32
2.6 Identificação de espécies de <i>Meloidogyne</i> .....	33
2.7 Importância do levantamento de fitopatógenos.....	39
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	41
<b>CAPITULO I: Levantamento de espécies de <i>Meloidogyne</i> presentes em áreas agrícolas em diferentes microrregiões no Estado do Ceará</b> .....	47
<b>RESUMO</b> .....	48
<b>ABSTRACT</b> .....	49
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	50
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	52
2.1 Coletas das amostras em campo.....	52
2.2 Procedimento para extração de nematoides das raízes e inoculação.....	58
2.3 Caracterização morfológica das espécies de <i>Meloidogyne</i> .....	58
2.4 Caracterização isoenzimática das populações de <i>Meloidogyne</i> spp.....	59
2.5 Caracterização fisiológica das populações de <i>Meloidogyne</i> .....	61
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	63
<b>4 CONCLUSÕES</b> .....	77
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	78

<b>CAPITULO II: Ocorrência de <i>Meloidogyne enterolobii</i> em pomares de goiabeiras em municípios do Estado do Ceará.....</b>	<b>82</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>83</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>84</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>85</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>90</b>
2.1 Coletas das amostras em campo.....	90
2.2 Procedimento para extração de nematoides das raízes e inoculação.....	90
2.3 Caracterização morfológica das espécies de <i>Meloidogyne</i> .....	94
2.4 Caracterização isoenzimática das populações de <i>Meloidogyne</i> spp.....	94
2.5 Caracterização fisiológica das populações de <i>Meloidogyne enterolobii</i> .....	95
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>96</b>
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>103</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>104</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os nematoides são considerados como um dos organismos mais numerosos existentes no mundo. Há cerca de 20.000 espécies de nematoides descritas, ocorrendo nos mais diversos habitats do planeta como solo, rios, lagos e mares, podendo ser encontrados desde regiões extremamente frias até desérticas, parasitando animais, plantas ou alimentando-se de matéria orgânica ou diferentes microrganismos. Pelo menos 4.000 espécies parasitam as plantas nas mais variadas regiões e climas afetando grande parte das culturas de importância econômica mundial (FREITAS *et al.*, 2012). Pertencentes ao Filo Nematoda, Classe Chromadorea, esses animais são responsáveis por consideráveis perdas na produtividade agrícola que podem em condições favoráveis, comprometer até 100% da produção (FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

Dentre os fitonematoides destacam-se aqueles pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, conhecidos como nematoide das galhas, os quais possuem papel de destaque na produção agrícola brasileira em virtude de sua ampla distribuição geográfica e elevada redução na produtividade das culturas. Contribuem para esse prejuízo a sua alta capacidade reprodutiva e o fato de existirem espécies perfeitamente adaptadas às condições edafoclimáticas brasileiras (FERRAZ; MONTEIRO, 2011; FREITAS *et al.*, 2012). As espécies *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood 1949, *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 e *M. hapla* Chitwood 1949 são as espécies mais comumente relacionadas com a infestação de plantas cultivadas no Brasil. Além destas espécies, já foram também registradas no país *M. exigua* Goldi, 1887, *M. coffeicola* Lordello e Zamith, 1960, *M. graminicola* Golden e Birchfield, 1965, *M. thamesi* Chitwood in Chitwood, Specht & Havis, 1952 (Goodey, 1963), *M. hispanica* Hirschmann, 1986, *M. ethiopica* Whitehead, 1968, *M. enterolobii* (sinonímia: *M. mayaguensis* Rammah e Hirschmann, 1988) Yang e Eisenback, 1983, *M. paranaensis* Carneiro, Carneiro, Abrantes, Santos e Almeida, 1996, *M. petuniae* Charchar, Eisenback e Hirschmann, 1999 e *M. morocciensis* Rammah e Hirschmann, 1990 (TENENTE *et al.*, 2002; HUNT; HANDOO, 2009).

Na identificação das espécies de *Meloidogyne* a principal técnica empregada era observação de configurações perineais em microscópio ótico. Na última década, com o avanço das pesquisas no campo da taxonomia de nematoides, constatou-se que esta característica é muito variável e, portanto, insuficiente para identificação das espécies. Além disso, é comum o surgimento de populações com configurações perineais atípicas, o que

aumenta a dificuldade de utilização destas para fins taxonômicos (CARNEIRO *et al.*, 2000; CASTRO *et al.*, 2003). Porém diante da importância desse gênero é necessário que a identificação do fitonematoide seja realizada corretamente, para que as práticas de manejo como rotação de cultura e o uso de variedades resistentes, sejam adotadas adequadamente (MOURA, 1996). Atualmente, além da análise da configuração perineal de fêmeas, investigam-se também as características morfológicas, biológicas, citogenéticas, bioquímicas e moleculares. As técnicas bioquímicas, particularmente eletroforese em gel de poliacrilamida, têm sido úteis para identificar espécies e estudar as relações taxonômicas, não somente de *Meloidogyne*, como de outros gêneros de fitonematoídeos, como *Radopholus*, *Globodera*, *Heterodera*, *Pratylenchus* e *Ditylenchus* (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001; ALONSO; ALFENAS, 2006).

Desse modo, frente às dificuldades encontradas com a utilização da configuração perineal em trabalhos de diagnose no Brasil, a técnica de eletroforese de isoenzimas vem sendo adotada como um dos métodos mais adequados em estudos de identificação de *Meloidogyne* spp. O avanço alcançado com essa metodologia transformou-a numa ferramenta indispensável na diagnose diferencial (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001).

Segundo Neves *et al.* (2009), dados obtidos em levantamentos e identificações de espécies de nematoídeos associados às culturas e a determinação da sua distribuição numa localidade, possibilita o início de estudos a respeito da biologia, ecologia e de métodos de controle de nematoídeos gerando importantes informações visando principalmente a adoção de medidas de controle antes que estes patógenos atinjam o nível de dano econômico.

Diante do que foi abordado e considerando a frequência com que os nematoídeos das galhas afetam as culturas agrônomicas e a carência de registros atualizados das espécies e raças de *Meloidogyne* presentes no Estado Ceará, tornaram-se objetivos deste trabalho:

- 1) Identificar as espécies de *Meloidogyne* presentes em fruteiras, hortaliças, plantas ornamentais, medicinais e silvestres coletadas;
- 2) Caracterizar raças das espécies de *Meloidogyne* mais comumente encontradas na região;
- 3) Identificar hospedeiros naturalmente infestadas de *M. enterolobii* nos municípios do Ceará;
- 4) Determinar a predominância das espécies e/ou raças associadas às espécies vegetais coletadas.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Agricultura no Estado do Ceará

O Brasil é o terceiro produtor mundial de frutas, atrás apenas da China e da Índia, e décimo quinto país exportador mundial de frutas. De acordo com os dados do IBGE referente ao ano de 2012, a área colhida de frutas no território nacional foi de 3,1 milhões de hectares com uma produção de 47,6 milhões de toneladas (IBGE, 2013; ADECE, 2013). Dentre os estados brasileiros, o Ceará destacou-se em 2011 como o quarto maior produtor de frutas do país e como o terceiro exportador. O Estado é considerado o primeiro produtor de caju (*Anacardium occidentale* L.), o segundo de coco (*Cocos nucifera* L.) e maracujá (*Passiflora edulis* Sims) e o terceiro produtor de mamão (*Carica papaya* L.) do país (ADECE, 2013).

Segundo a Agência de Desenvolvimento do Estado do Ceará (ADECE), o Programa de Agricultura Irrigada possui aproximadamente 90 mil hectares irrigados, dos quais 38,4 mil hectares são empregados para o cultivo de frutas. Na área irrigada as fruteiras mais exploradas são coco, maracujá e mamão. Há também potencial para produção irrigada de abacate (*Persea americana* Mill.), banana (*Musa* sp.), citros (*Citrus* sp.), goiaba (*Psidium guajava* L.), manga (*Mangifera indica* L.) e uva (*Vitis vinifera* L.). Além disso, o Estado do Ceará produz muitas frutas regionais como cajá (*Spondias lutea* L.), cajarana (*Spondias* sp.), siriguela (*Spondias purpurea* L.), ata (*Annona squamosa* L.), atemóia (*A. squamosa* L. x *A. cherimola* Mill), graviola (*Annona muricata* L.) e jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). Alguns produtos estão começando a produzir com boas perspectivas como cacau (*Theobroma cacao* L.), caqui (*Diospyros kaki* L.), figo (*Ficus carica* L.), maçã (*Malus domestica* Borkh.), morango (*Fragaria vesca* L.) e pera (*Pyrus communis* L.). A produção de frutas no Estado em 2011, incluindo o caju, foi de aproximadamente 2,5 milhões de toneladas (ADECE, 2013).

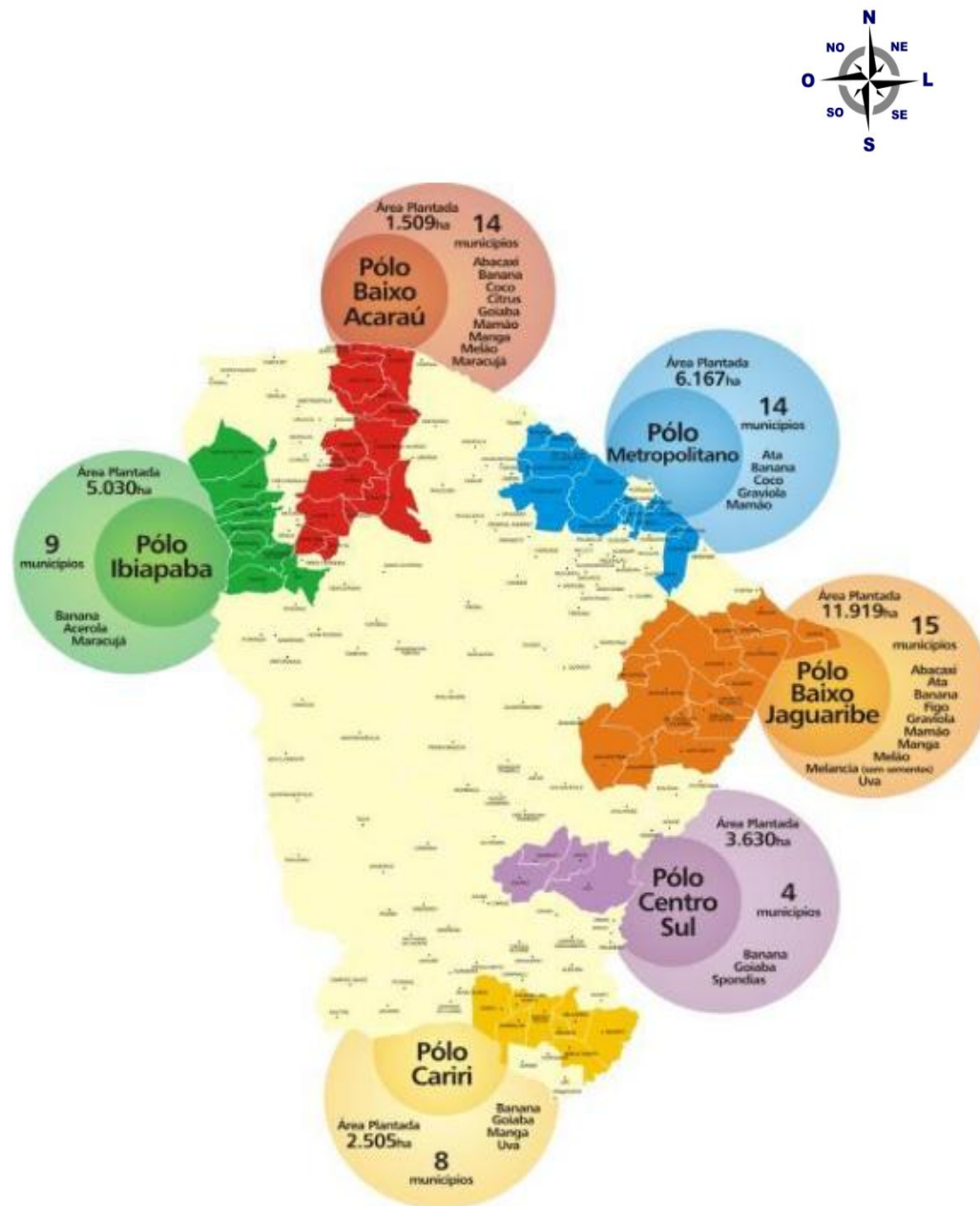
A olericultura se posiciona entre os segmentos com maior expressão produtora no agronegócio brasileiro, com uma produção de 19,2 milhões de toneladas colhidas no ano de 2011. Dentre as hortaliças destacaram-se o alho (*Allium sativum* L.), batata (*Solanum tuberosum* L.), batata-doce (*Ipomoea batatas* L. (Lam.)), cebola (*Allium cepa* L.), cenoura (*Daucus carota* L.), melancia (*Citrullus lanatus* L.), melão (*Cucumis melo* L.) e tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), como as mais exploradas no país (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTALIÇAS, 2013). As hortaliças mais produzidas no Estado do Ceará referente ao ano de 2012 foram mandioca (*Manihot esculenta* L.), melão, tomate, melancia e

batata-doce com uma área colhida de 103 mil hectares e uma produção de 889 mil toneladas (IBGE, 2013). O Estado do Ceará é considerado o segundo maior produtor de melão, ficando atrás apenas do Rio Grande do Norte (ADECE, 2013).

Além de fruteiras e hortaliças, a exploração de flores tem crescido bastante nos últimos anos. O Ceará foi considerado o segundo maior exportador de bulbos, rizomas, tubérculos, com rendimentos de US\$ 4,28 milhões no ano de 2012 (ADECE, 2013).

A agricultura irrigada passou pela necessidade de eleger polos de produção com potencial de irrigação. Os principais polos do Ceará, somando área superior 70 mil hectares, são seis (Figura 1) com um total de 64 municípios: 1- Polo Ibiapaba composto por nove municípios (Carnaubal, Croatá, Guaraciaba do Norte, Ibiapina, Ipu, São Benedito, Tianguá, Ubajara, Viçosa do Ceará), com uma área irrigada de 12.000 ha, com produção de hortaliças, plantas ornamentais, flores, rosas, folhagens e fruticultura como acerola (*Malpighia glabra* L.), banana, goiaba, manga, maracujá (*Passiflora edulis* Sims); 2- Pólo Baixo Acaraú composto por 14 municípios (Acaraú, Bela Cruz, Cariré, Cruz, Forquilhas, Groárias, Marco, Massapê, Meruoca, Morrinhos, Reriutaba, Santana do Acaraú, Sobral e Varjota) com área irrigada 4.000 ha e produção de abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill), banana, coco, citros, goiaba, mamão, manga, maracujá, melão, pimenta (*Capsicum frutescens* L.) e uva; 3-Polo Metropolitano composto por 14 municípios (Aquiraz, Cascavel, Caucaia, Eusébio, Fortaleza, Guaiúba, Itaitinga, Maracanaú, Maranguape, Pacatuba, Pentecoste, Pindoretama, São Gonçalo do Amarante e São Luis do Curu) e uma área irrigada de 15.000 ha com produção de flores (folhagens e flores tropicais), bulbos de amarilis, caladium, ata, banana, coco, graviola e mamão; 4- Polo Baixo Jaguaribe com 15 municípios (Aracati, Alto Santo, Icapuí, Ibicuitinga, Itaiçaba, Jaguaretama, Jaguaribara, Jaguaruana, Limoeiro do Norte, Morada Nova, Palhano, Quixeré, Russas, São João do Jaguaribe e Tabuleiro do Norte), e uma área irrigada de 28.000 ha e produção de abacaxi, ata, banana, citros, figo, goiaba, graviola, mamão, manga, melão, melancia, uva, hortaliças e sementes; 5- Polo Centro Sul composto por quatro municípios (Icó, Iguatu, Quixelô e Orós) e área irrigada 8.000 ha e produção de banana, goiaba, spondias e 6- Pólo Cariri com oito municípios (Abaiara, Barbalha, Brejo Santo, Crato, Juazeiro do Norte, Mauriti, Milagres e Missão Velha) e área irrigada de 6.000 ha, e produção de hortaliças, flores e frutas (banana, goiaba, manga, uva) (ADECE, 2013).

Figura 1 – Polos irrigados do Estado de Ceará.



Fonte: ADECE (2013)

## 2.2 Fitonematoides

Dentre as perdas nas culturas causadas por fitopatógenos, destacam-se aquelas provocadas por nematoides cujos danos variam de leves a severos, dependendo da suscetibilidade da espécie e variedade da planta parasitada, da espécie do nematoide e seu nível de infestação no solo, do tipo de solo, das estratégias de sobrevivência; das condições ambientais e da interação com outros microrganismos, principalmente fungos e bactérias (GRECO; DI VITO, 2009; FREITAS *et al.*, 2012).

Desde 1994, existem no Brasil pelo menos 76 gêneros de fitonematoides incluindo mais de 270 espécies afetando mais de 600 espécies vegetais entre cultivadas e silvestres (MANSO *et al.* (1994). Estes parasitas afetam culturas de grande importância econômica no Brasil como o tomate, a soja (*Glycine max* (L.) Merrill), o milho (*Zea mays* L.), a mandioca, o sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.), o arroz (*Oryza sativa* L.), o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), a banana, o mamão, o café, a cana-de-açúcar dentre outras (CARNEIRO *et al.*, 1996; MORITZ *et al.*, 2003).

Os fitonematoides que parasitam plantas superiores alimentam-se principalmente de seus órgãos subterrâneos como raízes, rizomas, tubérculos e bulbos. Mas, também, existem outros que se alimentam de órgãos aéreos, como caules, folhas, flores, frutos e sementes (FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

A posição sistemática dos fitonematoides tem sido motivo de controvérsias entre taxonomistas, os quais têm posicionado os nematoides em diferentes filos. Entretanto, atualmente, os nematoides fitopatogênicos estão classificados no Reino Animal, Divisão Bilaterata, Filo Nematoda e Classes Chromadorea e Enoplea (FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

Estes patógenos são descritos como organismos geralmente tubulares alongados, medindo de 0,3 a 30 mm de comprimento e um diâmetro de 15 a 30 µm. São pseudocelomados, não segmentados, de simetria bilateral, dióicos (machos e fêmeas separados), com sistema digestivo e reprodutivo completo. Machos e fêmeas geralmente são morfologicamente semelhantes, exceto pelos órgãos de reprodução (*Pratylenchus*, *Radopholus*, *Xiphinema*, *Helicotylenchus*, *Aphelencoides*, *Ditylenchus*), porém existem casos em que as fêmeas apresentam seu corpo globoso, como nos gêneros *Meloidogyne*, *Heterodera*, *Rotylenchulus* e *Tylenchulus*. Como estes patógenos dependem do tecido das plantas para seu crescimento, desenvolvimento e reprodução, são considerados como parasitas obrigatórios, e quanto à sua modalidade de parasitismo endoparasitas ou ectoparasitas, em ambos os casos sedentários ou migradores (FREITAS *et al.*, 2012).

Os sintomas primários observados nas plantas infestadas por fitonematoides são: sistema radicular denso ou muito pobre; lesões radiculares; galhas nas raízes, tubérculos e bulbos; descolamento ou rachaduras do córtex radicular; cistos; raízes truncadas; crescimento paralisado das raízes; necrose de órgãos aéreos e subterrâneos; folhas com manchas escuras; formação de sementes anormais. Já em campo os sintomas secundários mais comuns são: tamanho desuniforme das plantas; murchamento nas horas mais quentes do dia; amarelecimento e queda prematura das folhas; folhas e frutos pequenos; nanismo, declínio vagaroso; sintomas de deficiência mineral em solos ricos e diminuição da produção. Geralmente a manifestação da presença de nematoides costuma ocorrer em áreas limitadas, chamadas de manchas ou reboleiras, nas quais se observam plantas com pouca produção, contrastando com o restante da área (AGRIOS, 2005; FREITAS *et al.*, 2012).

A reprodução geralmente ocorre por fertilização cruzada (anfimixia), entretanto, em algumas espécies pode ser por partenogênese ou hermafroditismo. Em um grande número de espécies os machos são comuns, em número igual ou menor do que o de fêmeas. Contudo, é comum os machos serem raros ou inexistentes, e então a reprodução se processa comumente por partenogênese, onde não ocorre a fertilização dos óvulos. No caso dos gêneros *Pratylenchus* e *Helicotylenchus* a reprodução pode ser tanto por anfimixia como por partenogênese. No gênero *Meloidogyne* a reprodução comumente ocorre por partenogênese a qual pode ser mitótica obrigatória ou meiótica facultativa, contudo em algumas espécies pode ocorrer a anfimixia. Para as espécies *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. enterolobii*, *M. ethiopica*, *M. paranaensis*, *M. petuniae* a reprodução observada é a do tipo partenogênese mitótica obrigatória, enquanto que as espécies *M. exigua*, *M. graminicola*, *M. chitwoodi*, *M. minor* a reprodução é a do tipo meiótica facultativa (CHITWOOD; PERRY, 2009; FREITAS *et al.*, 2012). As espécies do gênero *Meloidogyne* que se reproduzem por anfimixia são: *M. carolinensis*, *M. kikueyensis*, *M. megatyla*, *M. microtila*, *M. pini*, *M. spartinae* e *M. subarctica* (CHITWOOD; PERRY, 2009).

Todos os organismos têm um ótimo de temperatura para seu metabolismo, crescimento e atividades. Para a maioria dos fitonematoides a temperatura ótima está entre 15 e 30° C, enquanto que temperaturas baixas, entre 5 e 15° C ou elevadas acima de 30 a 40° C, podem ser prejudiciais em decorrência do tempo exposto, podendo reduzir sua atividade metabólica inativando-os. Temperaturas inferiores a 5° C ou superiores a 40° C podem ser letais ao patógeno (FREITAS *et al.*, 2012).

Outro fator importante no metabolismo dos nematoides é a presença de um filme de água, considerada essencial para a sobrevivência e a movimentação dos mesmos. Quando

ocorre sua evaporação do solo, a maioria dos nematoides apresenta uma dormência (quiescência) podendo ser revertida com o retorno das condições favoráveis (MOURA, 1996). Existe ainda a sobrevivência por diapausa, dormência na fase do ovo, a qual requer condições endógenas para ser revertida. No gênero *Heterodera*, por exemplo, os ovos em cistos sobrevivem por vários anos no solo, principalmente em condições de baixa temperatura e umidade (FREITAS *et al.*, 2012).

A ação nociva dos fitonematoides nas raízes pode ser agravada quando há interação com outros patógenos habitantes do solo como fungos e bactérias. Neste caso, os nematoides podem favorecer a entrada do outro patógeno, modificando a fisiologia do hospedeiro ou até mesmo alterando o mecanismo de resistência a um determinado patógeno (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

Dentre os gêneros mais frequentemente associados às culturas estão: *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Heterodera*, *Radopholus*, *Rotylenchulus*, *Ditylenchus*, *Tylenchulus*, os quais parasitam principalmente os órgãos subterrâneos, em especial as raízes (AGRIOS, 2005).

No Brasil, as perdas acentuadas nos diferentes cultivos torna, por vezes, impossível cultivar economicamente certas espécies vegetais em áreas infestadas, sem que rigorosas e sistemáticas medidas de controle venham a ser implantadas. Como exemplo de difícil manejo podem ser citados os casos de plantio de cenoura e tomate em áreas infestadas por espécies do gênero *Meloidogyne*; exploração da soja em lavouras com *Heterodera glycines*; cultivo do algodão (*Gossypium hirsutum* L.) em glebas infestadas com *Rotylenchulus reniformis* e *Pratylenchus brachyurus*, áreas com bananeiras infestadas por *Radopholus similis* entre outras (RITZINGER *et al.*, 2007; KUBO *et al.*, 2012; SILVA; KRASUSKI, 2012).

### **2.3 O gênero *Meloidogyne***

Os nematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* são considerados um dos mais importantes fitopatógenos do mundo em virtude da ampla distribuição geográfica, com ocorrência em quase todos os países, pela extensa gama de plantas hospedeiras, na qual se incluem a maioria das espécies cultivadas, somado aos prejuízos que provocam na produção e dificuldade de controle nas grandes dificuldades inerentes às práticas de controle (NYCZEPIR; THOMAS, 2009; FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

A denominação do gênero *Meloidogyne* foi dada em 1887 pelo zoólogo suíço Emilio Augusto Goeldi, no Brasil, após estudar o parasitismo de nematoides em raízes de cafeeiro, o qual havia sido relatado pela primeira vez por Jobert em 1878, na antiga província do Rio de Janeiro. A partir daquela data a denominação atribuída ao agente causal do declínio do cafeeiro foi a de *Meloidogyne exigua* Goeldi. Esta denominação para o fitonematoide não foi imediatamente aceita pela comunidade científica, sendo restabelecido o nome *Meloidogyne* como o gênero do nematoide causador de galhas em raízes somente em 1949 por Chitwood, após revisão sobre as propostas na época existentes para o mesmo patógeno. A partir desta data os nematoides das galhas foram reconhecidos mundialmente como pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, possibilitando com isso, a classificação das quatro principais espécies do gênero em *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* (TIHOHOD, 1993; FREITAS *et al.*, 2012). A palavra *Meloidogyne* deriva do grego e significa “fêmea semelhante a uma pera” (TIHOHOD, 1993).

Os nematoides das galhas pertencem ao Reino Animal, Divisão Bilaterata, Filo Nematoda, Classe Chromadorea, Subclasse Chromadoria, Ordem Rhabditida, Subordem Tylenchina, Infraordem Tylenchomorpha, Superfamília Tylenchoidea, Família Meloidogynidae, Subfamília Meloidogyninae, Gênero *Meloidogyne* (HUNT; HANDOO, 2009; FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

As fêmeas do gênero *Meloidogyne* geralmente apresentam coloração esbranquiçada, corpo globular a piriforme, às vezes alongados, com 295-4.250  $\mu\text{m}$  de comprimento e 400  $\mu\text{m}$  de diâmetro médio, provida de pescoço usualmente curto, às vezes muito longo. Apresenta estilete robusto, medindo 10-15  $\mu\text{m}$ , com o cone ocupando metade do seu comprimento total, mostrando curvatura dorsal e abertura distal e dotado de três bulbos basais (TIHOHOD, 1997; HUNT; HANDOO, 2009).

Os machos são vermiformes, migradores com comprimento do corpo variando de 700 a 2.000  $\mu\text{m}$  (EISENBACK; HUNT, 2009). Com estilete robusto (13-30  $\mu\text{m}$  em média 18-24  $\mu\text{m}$ ), provido de cone reto, sendo ocasionalmente mais curto, mostrando abertura posterior ao ápice e dotado de três bulbos basais. O orifício da glândula esofagiana dorsal (DEGO) varia de 1,5–13  $\mu\text{m}$ . Variações no estilete e na glândula esofagiana dos machos podem representar características diferenciais importantes na identificação entre as espécies (TIHOHOD, 1997; HUNT; HANDOO, 2009).

Os juvenis do segundo estágio (J2) são vermiformes, infectantes e migradores, anelados com tamanho que varia de 250-600  $\mu\text{m}$  de comprimento e estilete delicado que mede

em média 8-18 µm de comprimento e distância do DEGO com variação de 2-8 µm (TIHOHOD, 1997).

Segundo Hunt e Handoo (2009) existem mais de 90 espécies no gênero *Meloidogyne*. As mais importantes economicamente, por serem amplamente difundidas, com uma maior gama de hospedeiros e responsáveis por elevados prejuízos na agricultura mundial são as espécies *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood 1949, *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 e *M. hapla* Chitwood 1949. No Brasil, além destas quatro espécies, já foram também registradas outras nove espécies: a *M. exigua* Goldi, 1887, *M. coffeicola* Lordello e Zamith, 1960, *M. graminicola* Golden e Birchfield, 1965, *M. thamesi* Chitwood in Chitwood, Specht & Havis, 1952 (Goodey, 1963), *M. hispanica* Hirschmann, 1986, *M. ethiopica* Whitehead, 1968, *M. enterolobii* Yang e Eisenback, 1983 (sinonímia *M. mayaguensis* Rammah & Hirschmann 1988), *M. paranaensis* Carneiro, Carneiro, Abrantes, Santos e Almeida, 1996, *M. petuniae* Charchar, Eisenback e Hirschmann, 1999 e mais recentemente *M. morocciensis* Rammah e Hirschmann, 1990 (CASTRO *et al.*, 2003; CARNEIRO *et al.*, 2003, 2004, 2008; HUNT; HANDOO, 2009; TENENTE *et al.*, 2002).

Os fitonematoides pertencentes a este gênero são conhecidos como nematoides das galhas por causar engrossamento das raízes, em razão da hiperplasia e hipertrofia de células e tecidos. Além de alterações morfológicas, ocorre na célula aumento de concentração de aminoácidos, proteínas, RNA e DNA, lipídeos, hormônios de crescimento, exsudatos radiculares, minerais, aumento da transpiração e respiração resultando em redução de açúcares e celulose. A formação de galhas nos sistema radicular das plantas compromete a absorção de água e nutrientes provocando sintomas secundários de subdesenvolvimento e deficiência nutricional (FREITAS *et al.*, 2012).

Inúmeras espécies de plantas como hortaliças, fruteiras, plantas ornamentais, medicinais e vegetação espontânea são parasitadas pelos nematoides das galhas, nos quais provocam grandes perdas e, em alguns casos, podem até ser considerados como fator limitante ao cultivo. Segundo estudos realizados por Charchar e Aragão (2005), os nematoides das galhas podem causar no campo, perdas de 14 a 24% em tomateiro e, de até 80% em pepino (*Cucumis sativus* L.), enquanto que nos cultivos protegidos de estufa as perdas variam de 15 a 44% em tomateiro e de até 100% em pepino. Pinheiro *et al.* (2010), relatam que as espécies pertencentes ao gênero *Meloidogyne* constituem também um sério problema para o cultivo de cenoura, onde as perdas podem variar de 20 até 100%, dependendo principalmente da densidade populacional do patógeno, da espécie do nematoide,



da suscetibilidade da cultivar, do tipo de solo e também das condições ambientais como a temperatura e umidade relativa. As perdas relacionadas ao cultivo da cenoura são quantitativas e qualitativas em função das alterações no formato das raízes parasitadas, visto que é a parte comercializada (PINHEIRO *et al.*, 2010).

Em frutíferas como a aceroleira, bananeira, goiabeira e mamoeiro a aquisição de mudas infestadas com *Meloidogyne* podem acarretar altos prejuízos, uma vez que introduzem o patógeno na área (MOURA, 1997). Segundo Cofcewicz *et al.* (2001) foi constatada a presença de *Meloidogyne* em 58% em solos com bananais nos Estados de Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do sul.

Em áreas de produção de flores é comum a ocorrência de pragas e doenças. Segundo Oliveira e Kubo (2006), já foram relatadas mais de 30 espécies de fitonematoides associados a plantas ornamentais em cultivos de casa-de-vegetação. Neste contexto, os maiores prejuízos econômicos na produção de plantas ornamentais estão associados a espécies pertencentes ao gênero *Meloidogyne*.

A importância do gênero *Meloidogyne* torna-se ainda maior considerando a dificuldade de seu controle tanto em mudas comercializadas como no solo de áreas já infestadas. Por esta razão, são conhecidas diversas práticas de controle que se classificam em físico, cultural, biológico, genético e químico. No controle físico são conhecidas as práticas de solarização do solo, emprego de coletor solar e autoclavagem para pequeno volume de solo (FREITAS *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2006). No controle cultural são conhecidas as práticas de rotação com plantas não hospedeiras, revolvimento do solo, pousio ou alqueive, inundação, plantio de espécies antagonistas como as espécies de crotalaria (*Crotalaria* spp.), cravo de defunto (*Tagetes* spp.), mucuna preta (*Mucuna aterrima*), uso de manípueira e aplicação de extratos vegetais com propriedades nematicidas (PONTE, 2002; LOPES *et al.*, 2005; SILVA, 2011; FREITAS *et al.*, 2012). No controle genético podem ser empregadas variedades resistentes a *Meloidogyne* como soja, milho, e algumas olerícolas como tomate ‘Nemadoro’ e ‘Monte Carlo’, ‘melão Yellow Start’, no entanto são ainda escassos no país genótipos de fruteiras e hortaliças com resistência a este patógeno (FERRAZ *et al.*, 2012). O controle biológico com bactérias parasitas como a *Pasteuria penetrans*, e fungos parasitas e, ou predadores como *Pochonia clamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus* e *Arthrobotrys* spp tem sido comumente relatado na literatura (SHARMA; GOMES, 1999; FERRAZ *et al.*, 2012). O controle químico mediante o uso de nematicidas fumigantes e não-fumigantes aplicado no solo e, ou em viveiros controlam nematoides. Contudo, o uso de nematicidas geralmente não é viável pelo alto custo, toxicidade, impacto ao meio ambiente e na saúde dos agricultores.

Aliado a isto, no Brasil, há poucos registros de nematicidas para uso nas culturas (VENTURA; HINZ, 2002; FREITAS *et al.*, 2008).

### 2.3.1 *Meloidogyne incognita*

De acordo com um levantamento realizado em 1975 pela Agência Americana para o Desenvolvimento Internacional (USAID), as espécies do gênero *Meloidogyne* predominante em materiais vegetais provenientes de mais de 60 países foram: *M. incognita* (52% dos casos), *M. javanica* (31%), *M. hapla* (8%), *M. arenaria* (7%) e outras espécies (2%). Das 40 espécies de *Meloidogyne* descritas na época, essas quatro espécies eram responsáveis por cerca de 95% dos prejuízos causados à agricultura mundial (MOURA, 1996; FREITAS *et al.*, 2012).

A espécie *M. incognita* é polífaga, cosmopolita e constitui-se no mais importante fitonematóide para a agricultura mundial, comumente encontrada em regiões tropicais e temperadas, onde está restrita a sistemas agrícolas protegidos (MOURA, 1996). De acordo com (TIHOHOD, 1997) as fêmeas desta espécie apresentam o comprimento total do corpo variando de 500 a 723  $\mu\text{m}$ , por 331 a 520  $\mu\text{m}$ . Seu estilete varia de 13 a 16  $\mu\text{m}$  de comprimento com bulbos basais arredondados. Em relação aos machos, o comprimento do corpo descrito por Tihohod (1997) varia de 1.108 a 1.953  $\mu\text{m}$  por 31,4 a 55,4  $\mu\text{m}$ . Estes indivíduos apresentam formato da região labial muito distinto, com um elevado disco labial grande e arredondado, disposto sobre os lábios medianos, podendo ser centralmente côncavo (HUNT; HANDOO, 2009). Os J2 têm comprimento do corpo de 337 a 403  $\mu\text{m}$  por 24,9 a 31,5 de diâmetro (TIHOHOD, 1997).

O padrão perineal de *M. incognita* varia de oval a arredondado, geralmente com arco dorsal alto, quadrado, estrias usualmente onduladas, campo lateral fracamente demarcado com estrias bifurcadas (HUNT; HANDOO, 2009).

Essa espécie possui quatro biótipos, os quais parasitam de forma diferenciada plantas ou cultivares, sendo, em razão disso denominadas raças fisiológicas. A identificação dessas raças faz-se com o auxílio das hospedeiras diferenciadoras fumo (*Nicotiana tabacum* L.) ‘NC 95’ e algodão ‘Deltapine 16’ (HARTMAN; SASSER, 1985). Dependendo da reação das duas plantas ao nematoide na combinação, é considerada raça 1 quando não parasita algodão e fumo, raça 2 quando parasita apenas fumo, raça 3 quando infesta apenas as raízes do algodão e raça 4 quando causa galhas tanto em algodão como em fumo (HARTMAN; SASSER, 1985).

A raça 1 é considerada a mais frequente em todo o mundo com 67% das infestações da espécie, seguida da raça 2 com 18%, raça 3 com 11% e raça 4 com 4% de ocorrência em plantas (MOURA, 1996).

A espécie *M. incognita* apresenta três fenótipos para a isoenzima esterase (EST), denominados I1, I2 e S1, e um fenótipo para malato-desidrogenase (MDH) denominado N1 (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1985; CARNEIRO *et al.*, 2004). O fenótipo I1 caracteriza-se pela presença de uma banda de igual mobilidade em relação à primeira banda de *M. javanica* utilizada como padrão de comparação. Já o I2 se diferencia do I1 pela presença de uma segunda banda mais tênue, porém próxima da outra banda mais facilmente visualizada (SANTOS; TRIANTAPHYLLOU, 1992; CARNEIRO *et al.*, 2000).

Oliveira *et al.* (2006) ao examinar raízes de cafeeiro com galhas e após a análise dos fenótipos de esterase em gel de poliacrilamida, constatou que uma população apresentou o fenótipo S1, caracterizada pela presença de uma banda com menor mobilidade quando comparada com à primeira banda de *M. javanica* e ao fenótipo I1 típico de *M. incognita* (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1985). Esses três fenótipos de esterases já foram detectados em populações de *M. incognita* no Brasil, e aparentemente não existe relação dos três fenótipos com a maior ou menor capacidade do nematoide parasitar o cafeeiro ou qualquer outra planta hospedeira (OLIVEIRA, 2006).

### **2.3.2 *Meloidogyne javanica***

A espécie *M. javanica* é considerada cosmopolita nas regiões tropical e subtropical superada na dispersão apenas por *M. incognita*. *M. javanica* é uma das espécies mais importantes dos nematoides das galhas em razão dos danos que provocam além do grande número de hospedeiras (RAMMAH; HIRSCHMMAN, 1990; CARNEIRO *et al.*, 2003). No Brasil, foi assinalada desde os anos de 1950, parasitando um grande número de culturas e de plantas daninhas, tendo como as principais hospedeiras no Brasil, as hortaliças em geral, arroz, banana, cana-de-açúcar, entre muitas outras (TENENTE *et al.*, 2002).

As fêmeas de *M. javanica*, de acordo com (TIHOHOD, 1997) apresentam o comprimento total do corpo variando de 541 a 804  $\mu\text{m}$ , por 331 a 581  $\mu\text{m}$ . Seu estilete varia de 14 a 18  $\mu\text{m}$  de comprimento com bulbos basais arredondados. Em relação aos machos, o comprimento do corpo varia de 757 a 1.297  $\mu\text{m}$  por 17,5 a 42,9  $\mu\text{m}$ . Os J2 têm comprimento do corpo de 387 a 459  $\mu\text{m}$  por 27,1 a 35,9 de diâmetro.

O padrão perineal de *M. javanica* se caracteriza pela presença de sulcos visíveis em um ou nos dois campos laterais, com formato arredondado, arco dorsal baixo, estrias lisas (HUNT; HANDOO, 2009).

Embora as raças fisiológicas tenham sido bem estudadas para algumas espécies de *Meloidogyne* pelo ‘International *Meloidogyne* Project’ (IMP), para *M. javanica* elas foram apenas referidas, não sendo numeradas de acordo com as reações dos hospedeiros diferenciadores, devido à baixa frequência com que foram constatadas (CARNEIRO *et al.*, 2003). Segundo Hartman e Sasser (1985), essa espécie apresenta parasitismo nas cultivares de fumo ‘NC 95’ e melancia ‘Charleston Gray’ e não parasitismo em algodão ‘Deltapine 16’. No pimentão (*Capsicum frutescens* L.) ‘Early California Wonder’ e no amendoim (*Arachis hypogaea* L.) ‘Florunner’ a infestação vai variar de acordo com a raça envolvida.

No Brasil existem quatro raças fisiológicas de *M. javanica* diferenciadas pelo pimentão ‘Early California Wonder’ e amendoim ‘Florunner’: a raça 1 que não parasita o pimentão e nem o amendoim; a raça 2 afeta somente o pimentão; a raça 3 infesta somente o amendoim enquanto que a raça 4 tem as duas espécies como hospedeiras. Esta última raça fora identificada pela primeira vez no Brasil não tendo sido, portanto, relatada no exterior (CARNEIRO *et al.*, 2003).

O padrão de esterase comum em *M. javanica* apresenta o fenótipo J3, ou seja, a formação de três bandas de atividade isoenzimática, caracterizada pela existência de uma banda com menor mobilidade distanciada das outras duas bandas de mobilidade maior. No entanto, particularidades podem ser encontradas nos padrões isoenzimáticos de *M. javanica*. A raça 2 encontrada no Estado do Paraná, apresentou o perfil de esterase com apenas duas bandas (J2), fenótipo incomum relatado dentro dessa espécie (CARNEIRO *et al.*, 1998; CARNEIRO *et al.*, 2000).

O fenótipo de esterase (J3) da espécie *M. javanica* é empregada como padrão nas análises eletroforéticas em estudos para identificação das demais espécies de *Meloidogyne*.

### **2.3.3 *Meloidogyne arenaria***

É uma espécie cosmopolita, encontrada em toda a região tropical e subtropical, e também em países de clima frio. Seu relato inicial foi em amendoim nos Estados Unidos (Flórida), ainda no século XIX. No Brasil, foi assinalada na década de 1950, em soja, e depois em grande número de culturas e plantas daninhas. Esta espécie é altamente polífaga, afetando

larga lista de monocotiledôneas e dicotiledôneas cultivadas além de espécies ornamentais (TENENTE *et al.*, 2002).

Segundo Hartman e Sasser (1985), a raça 1 dessa espécie apresenta parasitismo nas cultivares de pimentão ‘Early California Wonder’ e amendoim ‘Florunner’, enquanto a raça 2 não parasita nenhuma dessas duas espécies.

De acordo com (TIHOHOD, 1997) as fêmeas desta espécie apresentam o comprimento total do corpo variando de 510 a 1.000  $\mu\text{m}$ , por 400 a 600  $\mu\text{m}$ . Seu estilete varia de 13 a 17  $\mu\text{m}$  de comprimento com bulbos basais arredondados. Já em relação aos machos, segundo o mesmo autor, o comprimento do corpo varia de 1.270 a 2000  $\mu\text{m}$  por 44 a 65  $\mu\text{m}$ . Estes indivíduos apresentam formato da região labial muito distinto, geralmente com uma ou duas anelações incompletas, disco labial arredondado, disposto sobre os lábios medianos, e lábios laterais geralmente ausentes (HUNT; HANDOO, 2009). Os J2 têm comprimento do corpo de 450 a 490  $\mu\text{m}$  por 26 a 32 de diâmetro (TIHOHOD, 1997).

O padrão perineal de *M. arenaria* varia de oval a arredondado, geralmente com arco dorsal baixo, achatado com estrias lisas ou ligeiramente onduladas, contínua ou quebrada. No campo lateral apresenta linhas ligeiramente voltadas para a ponta da calda levando a formação de “ombros” (HUNT; HANDOO, 2009).

Segundo Esbenshade e Traintaphyllou (1985), as populações de *M. arenaria* mostram-se muito variáveis quanto aos perfis eletroforéticos. Existem três fenótipos de esterases bem definidos que são A1, A2 e A3, que apresenta de um a três bandas, respectivamente. Algumas populações de *M. arenaria*, segundo os autores, podem apresentar fenótipos de esterase atípicos com duas a quatro bandas de mobilidade variada.

### **2.3.4 *Meloidogyne hapla***

A espécie *M. hapla* é polífaga, parasita plantas cultivadas filiadas a diversas famílias. Seu relato inicial foi em batata nos Estados Unidos (New York). É uma espécie adaptada a países de clima temperado a frio, embora também comum em certas culturas cultivadas em clima tropical. No Brasil, a *M. hapla* foi relatada tanto em estados de clima quente como nos estados onde ocorre um clima mais ameno, como é o caso da região sul (TENENTE *et al.*, 2002; HUNT; HANDOO, 2009).

No Estado do Rio Grande do Norte *M. hapla* foi assinalada em tomate, berinjela (*Solanum melongena* L.), entrada-de-jerusalem (*Hibiscus* sp.) e mastruço (*Chenopodium ambrosioides* L.) (PONTE, 1977). Já Freire e Mosca (2009) relataram o parasitismo de *M.*

*hapla* em plantas ornamentais de Zinia (*Zinnia elegans* Jacq.), girassol (*Helianthus annuus* L.) e dois amores (*Pedilanthus tilhymaloides* (L.) Poit) no Ceará. Essa espécie foi também constatada por Silveira *et al.* (1989) em morangueiro no Estado de São Paulo e por Somavilla *et al.* (2011) em raízes de quivi (*Actinidia deliciosa* (Chevalier) Liang & Ferguson) no Rio Grande do Sul.

De acordo com (TIHOHOD, 1997) as fêmeas desta espécie apresentam o comprimento total do corpo variando de 419 a 845  $\mu\text{m}$ , por 331 a 561  $\mu\text{m}$ . Seu estilete varia de 10 a 13  $\mu\text{m}$  de comprimento com bulbos basais pequenos e arredondados. No caso dos machos, o comprimento do corpo descrito por Tihohod (1997) varia de 791 a 1.432  $\mu\text{m}$  por 33,3 a 47,0  $\mu\text{m}$ . Os machos apresentam região labial distinto, com o disco labial geralmente elevado e lábios laterais presentes (HUNT; HANDOO, 2009). Os J2 têm comprimento do corpo de 312 a 355  $\mu\text{m}$  por 20,1 a 26,6 de diâmetro (TIHOHOD, 1997).

Seu padrão perineal caracteriza-se por possuir um aspecto arredondado ou oval, estrias contínuas, sem bifurcações, com arco dorsal baixo e pontuações na cauda (HUNT; HANDOO, 2009).

Em relação às plantas diferenciadoras, de acordo com Hartman e Sasser (1985), *M. hapla* parasita as cultivares de fumo ‘NC 95’, pimentão ‘Early California Wonder’ e amendoim ‘Florunner’ e não parasita algodão ‘Deltapine 16’ nem a melancia ‘Charleston Gray’.

Essa espécie apresenta o fenótipo de esterase H1, ou seja, uma única banda que possui a mobilidade um pouco maior que a primeira banda de *M. javanica* (padrão).

### 2.3.5 *Meloidogyne enterolobii*

A espécie *M. enterolobii* foi descrita por Yang e Eisenback em 1983, oriunda de uma população encontrada em raízes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, na ilha de Hainan, na China. No Brasil, essa espécie foi assinalada pela primeira vez em Petrolina-PE, Curaçá e Maniçoba-BA, causando danos severos em plantios comerciais de goiabeiras, sendo na época denominada de *M. mayaguensis* (CARNEIRO *et al.*, 2001).

A espécie *M. enterolobii* tem sido motivo de pesquisas recentes no Brasil e no mundo em virtude dos danos severos que vem causando em plantios comerciais de goiabeiras e pela sua polifagia (CARNEIRO *et al.*, 2001). Além da goiaba, esse nematoide já foi encontrado parasitando diversas outras culturas em várias regiões do mundo como: berinjela, manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), pimenta, pimentão, café, melancia, beterraba (*Beta*

*vulgaris* L.), soja, batata-doce, feijão, batata entre outras (HUNT; HANDOO, 2009). No Brasil a espécie foi relatada associada a cultura da goiaba, acerola, mamão, alface, pepino, pimentão, tomate cereja, soja, abóbora e fumo (LIMA *et al.*, 2003; SOUZA *et al.*, 2006; ALMEIDA *et al.*, 2008; PAES *et al.*, 2012).

Segundo Hunt e Handoo (2009), o comprimento do estilete das fêmeas de *M. enterolobii* varia de 14 a 17  $\mu\text{m}$ . O padrão perineal tem variação de circular ao ovalado, arco dorsal variando de arredondado a trapezoidal, podendo ser baixo ou alto. As estrias são largamente espaçadas e a região da extremidade da cauda é grande, circular e usualmente sem estrias com as linhas laterais muitas vezes ausentes.

O comprimento do estilete do macho varia 18 a 25  $\mu\text{m}$ , enquanto o J2 tem o comprimento do corpo variando de 377-528  $\mu\text{m}$  (HUNT; HANDOO, 2009).

Essa espécie apresenta o fenótipo de esterase M2, com duas bandas principais com mobilidade mais baixa do que a primeira banda de *M. javanica* (padrão). Também apresenta mais duas bandas tênues bem próximas às duas bandas principais (CARNEIRO *et al.*, 2001).

## **2.4 Ciclo de vida de *Meloidogyne***

As fêmeas, ao alcançarem a maturidade, iniciam a produção de um complexo de substâncias gelatinosas pelas glândulas retais, expelidas pelo ânus que pode ser depositada no interior ou no exterior da raiz. Na massa, inicialmente transparente são depositados média 500 a 700 ovos (MOURA, 1996). Contudo, mais de 1.000 ovos podem ser encontrados em uma única massa de ovos a qual pode alcançar o tamanho do corpo de uma fêmea (TIHOHOD, 1993). Com o tempo, a massa de ovos escurece e torna-se amarela cremosa e em seguida marrom escura. O ciclo de vida de *Meloidogyne* inicia-se com o ovo, normalmente em estágio unicelular. O desenvolvimento embrionário resulta no juvenil de primeiro estágio (J1) que passa por uma ecdise ainda no ovo, dando origem ao juvenil de segundo estágio (J2). O J2 perfura o ovo com o seu estilete, e após rompê-lo eclode indo em busca de raízes. Uma vez dentro da raiz os J2 introduzem o seu estilete nas células e nelas injeta secreções das glândulas esofagianas. Estas secreções incitam hipertrofia celular no cilindro central e hiperplasia no periciclo, dando origem às células gigantes ou nutridoras, as quais possuem citoplasma denso, granuloso com núcleos/nucléolos muito evidentes, que passam a ser essenciais à alimentação e ao desenvolvimento do nematoide. Ocorre ainda uma intensa multiplicação celular em torno da região anterior do juvenil provocando o alargamento das

raízes, formando tumores denominado de galhas (FERRAZ; MONTEIRO, 2011; FREITAS *et al.*, 2012).

Ao se alimentar nas células nutridoras, o J2 aumenta o volume do corpo, atingindo o máximo crescimento, sofre uma nova ecdise, adquire uma forma ‘salsichoide’ (J3) tornando-se sedentário. Logo em seguida o J3 sofre nova ecdise e origina o J4 ou pré-adulto. Nesses estádios, que possuem curta duração, os nematoides não se alimentam, pois não possuem estiletos e seus esôfagos são parcialmente degenerados. É possível observar no J4 a retenção dos invólucros dos estádios anteriores. Posteriormente, após a quarta ecdise, formam-se os adultos fêmeas ou machos, com estiletos e esôfagos regenerados (MOURA, 1996; FREITAS *et al.*, 2008). Quando uma fêmea é formada, seu corpo continua a aumentar o volume até ficar globoso. O macho, por sua vez, é formado após sofrer metamorfose retornando ao corpo fusiforme, rompendo e deixando a cutícula onde se formou (emergência). Os machos possuem vida efêmera e cedo abandonam a planta hospedeira, o que leva a crê que não se alimentam (FERRAZ; MONTEIRO, 2011; FREITAS *et al.*, 2008).

Quando as condições para a reprodução de *Meloidogyne* são consideradas normais, predomina sempre a formação de fêmeas. Porém, em condições ambientais desfavoráveis, que podem ser um estresse ambiental sobre a planta hospedeira, como a falta d’água, temperatura muito alta ou fitotoxidez, alta competitividade por alimentos na raiz, más hospedeiras ou plantas resistentes ao nematoide, em plantas altamente parasitadas, debilitadas ou velhas, há um aumento no número de machos nas raízes infestadas (MOURA, 1996; FREITAS *et al.*, 2012). Esse aumento do número de machos é decorrente da mudança sofrida por juvenis que se desenvolveriam em fêmeas, nos quais o primórdio sexual origina testículos ao invés de ovários e ele se torna macho. Essa reversão sexual é um mecanismo de sobrevivência da espécie, pois menos ovos serão produzidos e o parasitismo sobre a planta moribunda será mais brando, garantindo a sobrevivência dos poucos indivíduos formados (FREITAS *et al.*, 2012).

A duração do ciclo de vida de espécies de *Meloidogyne* é fortemente afetada pela temperatura, umidade e planta hospedeira. Segundo Lordello (1994) para *M. incognita* o ciclo de vida fica em torno de 28 dias a 25,8 °C e de 54 dias se a temperatura for de 18,8 °C. Moens *et al.* (2009) relataram que em temperaturas próximas de 29°C as primeiras fêmeas de *M. incognita* parasitando raízes de tomateiro, surgiram com 13-15 dias após a penetração de J2 e que as primeiras massas de ovos foram constatadas nas raízes com 19-21 dias do início da infestação.



## 2.5 Disseminação

Como os nematoides são organismos de pouca mobilidade no solo, as atividades agrícolas que empregam máquinas e implementos são os principais fatores de disseminação dos mesmos. Para isso é necessário que os agricultores conheçam os fatores que contribuem para essa dispersão dentro da área, a fim de que possam adotar práticas agrícolas mais adequadas.

No Estado de São Paulo, nos municípios estudados por Carneiro *et al.* (2006), a disseminação de *M. enterolobii* pode estar ocorrendo entre os produtores por implementos agrícolas, uma vez que lavouras distantes pertencentes ao mesmo produtor encontravam-se infestadas pelo nematoide, sem que haja evidências de introduções de mudas infestadas provenientes de outras regiões do País.

Além das máquinas, os nematoides são disseminados através de mudas, o que requer cuidados para evitar a entrada do patógeno na área por meio de material vegetal. A disseminação de *M. enterolobii* no Brasil ocorreu por meio de mudas infestadas, pois em tão pouco tempo, o nematoide foi disseminado para diversas regiões do país (CARNEIRO *et al.*, 2003; TORRES *et al.*, 2007).

Segundo Lima *et al.* (2005) o sistema de produção de mudas, em geral, sem as precauções mínimas para evitar a infestação, contribui ainda mais para que o nematoide das galhas seja disseminado nas lavouras. Os cuidados devem incluir o substrato empregado no preparo das mudas que deve ter procedência conhecida ou ser submetido a algum tipo de tratamento para eliminação de patógenos. A utilização de bancadas para evitar o contato das mudas com o solo, seria também, alternativa para evitar a contaminação por estes agentes como também buscar a aquisição de mudas em viveiros certificados (CARNEIRO *et al.*, 2001; PAES *et al.*, 2012).

Tentativas para conter a disseminação do nematoide *M. enterolobii* em mudas de goiabeiras têm sido frustradas, em parte devido a morosidade dos órgãos competentes para fiscalizar e vistoriar as plantas comercializadas bem como o de adoção de medidas que impeçam o trânsito de material vegetal infestado para evitar a disseminação dessa praga em áreas produtoras de goiaba isentas do patógeno. Todos os cuidados devem ser tomados com mudas que entram numa propriedade, sejam elas de hortaliças, frutíferas, ornamentais ou mesmo de essências florestais utilizadas para recompor a reserva legal (GOMES *et al.*, 2008).

## 2.6 Identificação de espécies de *Meloidogyne*

É de elevada importância proceder à identificação das espécies de *Meloidogyne* presentes numa região. As informações podem contribuir para se definir a distribuição geográfica das espécies numa área, fornecer dados para estudos epidemiológicos, determinar a predominância de espécies do patógeno tanto em culturas como em campos de exploração agrícola, além de possibilitar adoções de medidas efetivas de controle.

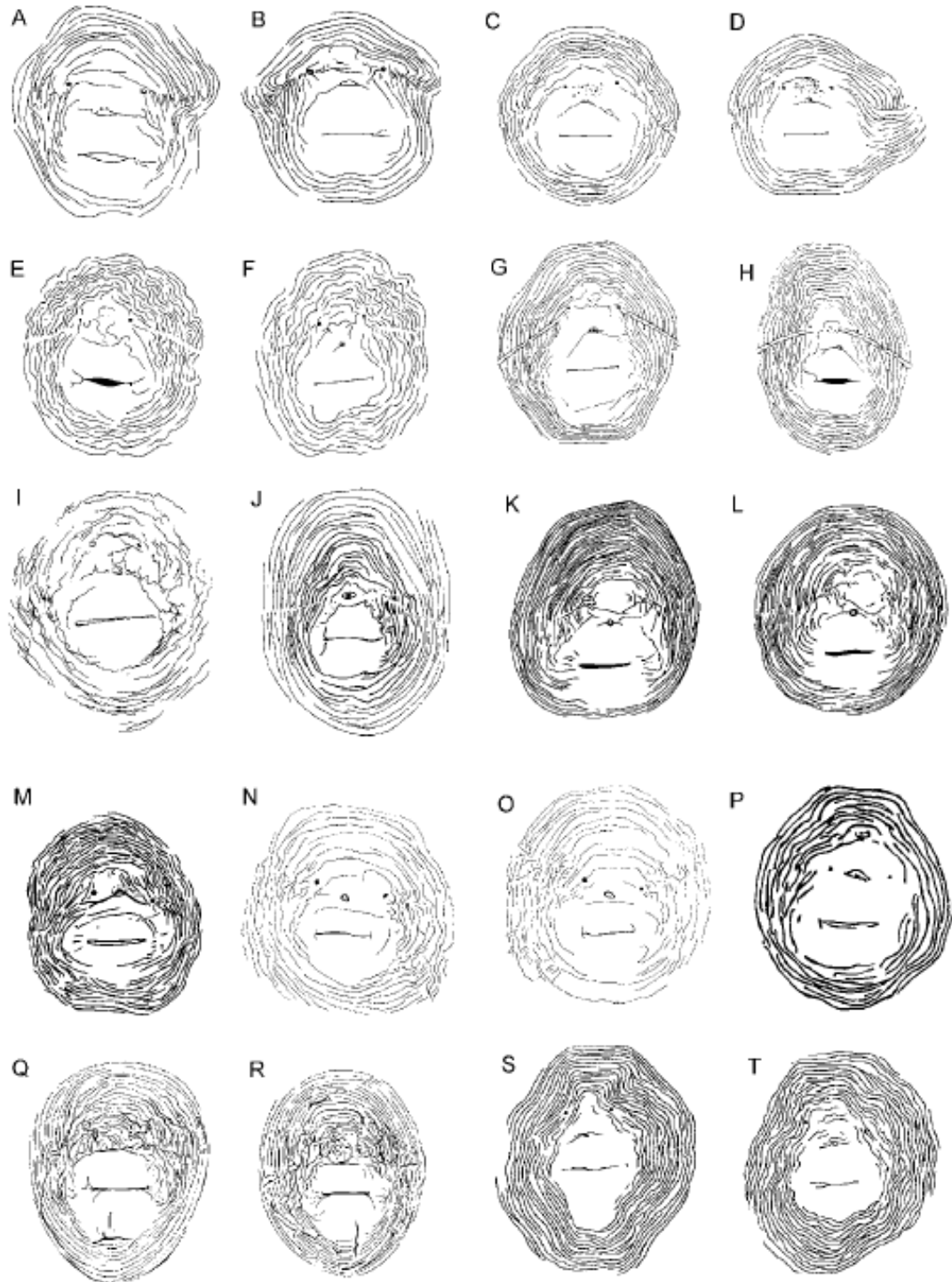
A identificação da espécie de *Meloidogyne* está associada a diversas técnicas que podem envolver a análise da configuração perineal de fêmeas maduras, a morfologia da região labial e do estilete de juvenis de segundo estágio, de machos e de fêmeas, teste de hospedeiras diferenciadoras, caracterização citogenética, análise de proteínas pelo método de eletroforese em gel de poliacrilamida, a mais empregada, e ainda a caracterização molecular (MOURA, 1996; CARNEIRO; ALMEIDA, 2001).

Na diferenciação das espécies do gênero *Meloidogyne*, os caracteres morfológicos têm sido mais utilizados do que os morfométricos, uma vez que estes podem ser afetados pelas condições ambientais. O padrão perineal era considerado como o mais importante e estudado. No entanto, estes padrões apresentam uma grande variabilidade na sua morfologia e, muitas vezes, podem ser encontradas formas intermediárias e até mesmo aberrantes (TIHOHOD, 1997).

A configuração da região perineal de fêmeas maduras de *Meloidogyne*, parte compreendida entre a vulva e o ânus e que contém marcas cuticulares características de cada espécie (Figura 2), é um parâmetro morfológico que foi muito utilizado na identificação dentro desse gênero (TIHOHOD, 1993). Porém, essa característica tem sido muito criticada, por ser considerada subjetiva e devido à ocorrência de variações ou surgimento de configurações atípicas ao padrão da espécie mesmo em populações oriundas de uma mesma fêmea. Além disso, esta técnica por ser dependente da habilidade do operador para os cortes e na interpretação está sujeita a erros, principalmente para espécies diferentes que apresentam semelhanças na configuração perineal (MOURA, 1996; FREITAS *et al.*, 2007).

Um exemplo da baixa confiabilidade da diagnose feita por meio da análise da configuração perineal é em relação ao primeiro registro de *M. mayaguensis* Rammah e Hirschmann no Brasil. Os primeiros sintomas severos da meloidoginose em goiabeira foram assinalados no Brasil em 1989, e a identificação do agente etiológico pela configuração perineal apontava a espécie *M. incognita* (MOURA; MOURA, 1989). No entanto, em 2001, após análise dos perfis isoenzimáticos e de estudos morfológicos complementares em

Figura 2 – Comparação de padrões perineais das doze principais espécies de *Meloidogyne*. (A, B): *M. arenaria*; (C, D): *M. hapla*; (E, F): *M. incognita*; (G, H): *M. javanica*; (I): *M. acronea*; (J): *M. chitwoodi*; (K, L): *M. enterolobii*; (M): *M. ethiopica*; (N, O): *M. exigua*; (P): *M. fallax*; (Q, R): *M. graminicola*; (S, T): *M. paranaensis*.



Fonte: HUNT; HANDOO (2009).

populações provenientes de goiabeira coletadas na mesma região, a espécie foi identificada como *M. mayaguensis* (CARNEIRO *et al.*, 2001).

Em virtude disso, a configuração da região perineal não é mais considerada isoladamente como uma única técnica confiável para determinar uma nova espécie de *Meloidogyne*, mais pode ser empregada como uma ferramenta complementar a outros estudos morfológicos, biológicos, bioquímicos e moleculares com machos, fêmeas e juvenis (CARNEIRO *et al.*, 2004).

As características morfométricas tais como, comprimento do corpo, do esôfago, da cauda e largura do corpo para os machos possui pouco valor taxonômico, porém, as particularidades da região anterior e a morfologia do estilete são importantes caracteres morfológicos (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991). De acordo com Carneiro *et al.* (2004) as características morfológicas dos machos são essenciais no diagnóstico de algumas espécies tais como *M. paranaensis*, *M. konaensis* e *M. incognita*, e com o uso dessa ferramenta foi possível confirmar que populações isoladas do cafeeiro da Guatemala eram *M. paranaensis*. Segundo Almeida *et al.* (2008) a distinção entre *M. enterolobii* e *M. incognita* com base no exame do padrão perineal, na morfologia da região anterior dos machos ao microscópio fotônico e nos valores da distância da abertura dos ductos da glândula dorsal esofagiana aos nódulos basais do estilete (DGO) dos machos é considerada segura.

Já em relação aos J2, os caracteres mais utilizados têm sido além da morfometria e a morfologia da cauda, a morfologia das estruturas da região anterior do corpo e do estilete (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991).

Espécies de *Meloidogyne* apresentam entre si preferências alimentares diferentes, porém, quando estas diferenças ocorrem também dentro de uma mesma espécie de *Meloidogyne*, tem-se as raças fisiológicas as quais não podem ser diferenciadas morfológicamente. Para a distinção dessas raças fisiológicas, empregam-se as denominadas hospedeiras diferenciadoras levando em consideração a infestação ou não do patógeno em cinco espécies vegetais: fumo ‘NC 95’, pimentão ‘Early California Wonder’, algodão ‘Deltapine 16’, melancia ‘Charleston Gray’ e o amendoim ‘Florunner’ (HARTMAN; SASSER, 1985). Esta seleção de plantas diferenciadoras foi realizada por Hartman e Sasser (1985) inicialmente para as oito raças fisiológicas das quatro principais espécies de *Meloidogyne*: *M. incognita* (4), *M. javanica* (1), *M. arenaria* (2) e *M. hapla* (1). A este grupo

foram acrescentadas mais três raças de *M. javanica*, sendo a raça 2 e raça 3 por Rammah e Hirschmann (1990) e a raça 4 a partir dos estudos de Carneiro *et al.* (2003) totalizando 10 raças fisiológicas. Atualmente essas hospedeiras diferenciadoras têm sido empregadas para comparação de comportamento de outras espécies de *Meloidogyne* (Figura 3).

Nas últimas duas décadas, as técnicas bioquímicas e moleculares vêm sendo mais estudadas como ferramenta de identificação dos fitonematoides, principalmente técnicas diagnósticas à base de proteínas e de DNA (FREITAS *et al.*, 2007).

O emprego de técnicas seguras, como a de análise de proteínas, tem possibilitado conhecer com maior precisão a identidade de *Meloidogyne* revelando a existência de novas espécies colaborando para o conhecimento da diversidade de *Meloidogyne* no país. A eletroforese de isoenzimas foi a primeira técnica a ser aplicada na fitonematologia para diagnose de espécies de *Meloidogyne* desde 1970. Nessa época, utilizavam-se os padrões de proteínas totais para a distinção das espécies. A complexidade da análise de proteína total dificultava a interpretação dos resultados e tornava-a suscetível a erros, em razão do grande número de bandas. Em virtude desses erros, o uso dos padrões de isoenzimas, menos complexos, tem sido intensificado por serem mais simples e fácil de interpretar (FREITAS *et al.*, 2007).

As isoenzimas são formas moleculares de uma mesma enzima com propriedades catalíticas similares, mas que diferem em suas mobilidades eletroforéticas (ALONSO; ALFENAS, 2006). Dentre as isoenzimas estudadas, a esterase (EST) é a mais utilizada na identificação de espécies de *Meloidogyne*, com mais de 40 fenótipos descritos, porém outras como a malato-desidrogenase (MDH), a superóxido dismutase (SOD) e a glutamato oxaloacetato transaminase (GOT), são com frequência incluídas em estudos para complementação ou confirmação de espécies previamente identificadas (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990; FREITAS *et al.*, 2007).

A técnica de eletroforese de isoenzimas consiste na avaliação da migração relativa (Mr) das isoenzimas. A mobilidade relativa dessas isoenzimas em gel de acrilamida sob corrente elétrica varia de acordo com suas cargas elétricas e pesos moleculares, levando à visualização de bandas em diferentes posições no gel, as quais são específicas para a maior parte das espécies de *Meloidogyne* (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1985). Quanto a posição do gel, o sistema de eletroforese pode ser vertical ou horizontal, e quanto aos tampões e respectivos valores do pH, o sistema pode ser descontínuo ou contínuo (ALFENAS; BRUNE, 2006). Diversos meios de suporte podem ser empregados para separação de moléculas como papel filtro, sílica-gel, membranas de acetato de celulose e géis de agarose,

Figura 3 – Resposta usual das quatro espécies mais comuns de *Meloidogyne* e suas raças ao teste hospedeiro diferencial da Carolina do Norte (HARTMAN & SASSER, 1985).

HOSPEDEIROS DIFERENCIADORES						
Espécies E raças de <i>Meloidogyne</i>	Algodão 'Deltapine 16'	Fumo 'NC 95'	Pimentão 'Early Califórnica Wonder'	Melancia 'Charleston Gray'	Amendoim 'Florunner'	Tomate 'Rutgers'
<b><i>M. incognita</i></b>						
Raça 1	-	-	+	+	-	+
Raça 2	-	+	+	+	-	+
Raça 3	+	-	+	+	-	+
Raça 4	+	+	+	+	-	+
<b><i>M. arenaria</i></b>						+
Raça 1	-	+	+	+	+	+
Raça 2	-	+	-	+	-	+
<b><i>M. javanica</i></b>						+
Raça 1	-	+	-	+	-	+
Raça 2	-	+	+	+	-	+
Raça 3	-	+	-	+	+	+
Raça 4	-	+	+	+	+	+
<b><i>M. hapla</i></b>	-	+	+	-	+	+

Modificado por RAMMAH; HIRSCHMANN (1990); CARNEIRO *et al.* (2003)

de amido ou de poliacrilamida, porém para isoenzimas, os géis de poliacrilamida têm sido preferidos por apresentarem maior poder de resolução e permitirem melhor separação (ALFENAS; BRUNE, 2006; FREITAS *et al.*, 2007).

O fenótipo isoenzimático para as diferentes espécies de *Meloidogyne* é obtido mediante a extração de isoenzimas de fêmeas leitosas (coloração branca) e posterior corrida eletroforética em gel de poliacrilamida. As bandas da proteína são visualizadas com a utilização de corantes específicos para cada isoenzima e o padrão eletroforético obtido é comparado com os já descritos na literatura (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1985; 1990).

Esta técnica é considerada eficiente e de grande validade para caracterizar todas as espécies de *Meloidogyne* estudadas bioquimicamente até o momento, como também caracterizar fenótipos atípicos, ou seja, espécies ainda não caracterizadas ou ainda não descritas. Seu emprego torna viável levantamentos a campo, determinando a frequência e distribuição relativas das espécies. Também possibilita detectar populações misturadas e proceder à sua purificação antes de conduzir estudos de melhoramento (CARNEIRO *et al.*, 1996; 2000).

O trabalho que iniciou o uso de fenótipos isoenzimáticos para diferenciar *Meloidogyne* spp. foi publicado por Esbenshade e Triantaphyllou (1985), os quais determinaram os padrões de esterase para 16 espécies de *Meloidogyne*, dentre elas, os fenótipos de *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. hapla*. Desde então, mais de 300 populações originárias de vários países e continentes foram posteriormente estudadas por aqueles autores, os quais confirmaram que as esterases podem ser empregadas com segurança na identificação das espécies de *Meloidogyne* e que as malato-desidrogenases são critério auxiliar na diferenciação de espécies cujos padrões de esterase são idênticos, como é o caso de *M. naasi* Franklin, 1965 e *M. exigua* (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990).

Carneiro *et al.* (1996) em estudos com fenótipos isoenzimáticos de esterase e malato desidrogenase de 90 populações brasileiras de *Meloidogyne* spp., relataram a ocorrência dos perfis isoenzimáticos para *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. exigua*, *M. hapla* e *M. graminicola*. Quando acrescentaram mais duas isoenzimas (superóxido dismutase e glutamato oxaloacetato transaminase) e trabalhando com outras 100 populações originárias de diferentes Estados do Brasil e países das Américas, Carneiro *et al.* (2000) determinaram 34 fenótipos isoenzimáticos para diferentes espécies de *Meloidogyne*, incluindo 18 fenótipos de esterase, seis de malato desidrogenase, cinco de superóxido dismutase e cinco de glutamato oxaloacetato transaminase. As espécies identificadas foram *M. arenaria*, *M. coffeicola*, *M. enterolobii*, *M. exigua*, *M. hapla*, *M. incognita*, *M. javanica*, *M. konaensis* e *M. paranaensis*.

As vantagens adicionais desta técnica são a segurança do método na diferenciação das espécies, a rapidez na condução e o custo relativamente baixo. Contudo, os estudos com a esterase apresentam como desvantagens: emprego exclusivo de fêmeas, preferencialmente branco leitosas, a não diferenciação de raças, a distinção de apenas 26 fenótipos dentre todas as espécies de *Meloidogyne* descritas na literatura, e do emprego de poliacrilamida, substância tóxica, na preparação dos géis de corridas (FREITAS *et al.*, 2012).

Os estudos moleculares que utilizam o DNA para o diagnóstico, apesar de não serem os mais rotineiramente empregados, têm como vantagem a não interferência do ambiente e do estágio de desenvolvimento do nematoide, fazendo desse método uma importante ferramenta para avaliações quarentenárias. No método de reação em cadeia de polimerase (Polymerase Chain Reaction-PCR), fragmentos de DNA obtidos de nematoide são amplificados com iniciadores específicos para milhões de cópias e submetidos à eletroforese para avaliação de padrão de bandas específicas (FREITAS *et al.*, 2012).

## **2.7 Importância do levantamento de fitopatógenos**

As doenças de plantas apresentam-se como um dos fatores de maior risco para a agricultura, comprometendo a produção final e causando prejuízos elevados. A intensidade das perdas está relacionada com a suscetibilidade da cultura, ocorrência de patógenos, às condições ambientais e ao manejo empregado. As perdas sofridas na produção agrícola podem ser quantitativas e, ou qualitativas, em razão da ocorrência das doenças em campo ou durante o armazenamento e o transporte (POZZA; ALVES, 2000).

O desconhecimento das espécies fitopatogênicas que ocorrem em uma cultura e o atraso no diagnóstico podem dificultar o manejo adequado e agravar os problemas pelo aumento da população do patógeno na área. Por isso, torna-se importante uma correta identificação dos agentes patogênicos presentes nas culturas como forma de se definir o manejo adequado a ser empregado e possibilitar a recuperação da lavoura ou pomar, com redução dos prejuízos causados por fitopatógenos (FERNANDES *et al.*, 2007).

O primeiro catálogo geral de plantas hospedeiras de *Meloidogyne* no Brasil foi publicado por Ponte (1977) apoiando-se em revisão bibliográfica e também nos registros da coleção nematológica do setor de Fitopatologia da Universidade Federal do Ceará. Em todos os casos a identificação das espécies baseou-se exclusivamente na avaliação da configuração perineal. Ainda segundo Ponte *et al.* (1996), num levantamento realizado no Estado do Ceará abrangendo as regiões litoral, sertão e terras úmidas em municípios não citados pelos autores, foram relacionadas 147 espécies vegetais, na maioria plantas daninhas, em associação com o nematoide das galhas, sendo que em 66 do total de hospedeiras referidas o nematoide foi identificado somente a nível de gênero.

Dias-Arieira *et al.* (2010), objetivando estudar a ocorrência de nematoides fitoparasitos em frutíferas cultivadas na região noroeste do Paraná, realizaram coletas de solo e raízes das espécies de abacateiro, abacaxizeiro, aceroleira, bananeira, caqui, citros,



coqueiro, figueira, goiabeira, macieira, mangueira, maracujazeiro, ateira e videira. Dentro das espécies de citros foram amostradas *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (laranjas pera, valência, folha-murcha e lima), *Citrus reticulata* Blanco (Tangerina Poncã, Cleópatra), *Citrus latifolia* Tanaka (limão), *Citrus deliciosa* Tenore (mexerica, monte negrina) e Champagne (*C. reticulata* x *C. sinensis*). Foi possível constatar nove diferentes gêneros de nematoides, como *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*, *Hemicycliophora*, *Xiphinema*, *Trichodorus*, *Tylenchulus*, *Mesocriconema* e *Dolichodorus*. Sendo que os principais gêneros *Helicotylenchus*, *Pratylenchus* e *Meloidogyne* foram diagnosticados em aproximadamente 50% das fruteiras, podendo representar um grande risco para fruteiras da região se não manejados adequadamente.

Moura *et al.* (2009), identificaram as espécies *M. arenaria*, *M. incognia*, *M. javanica*, *M. enterolobii*, e *M. hispanica*, após levantamento de espécies do gênero *Meloidogyne* em canaviais no Estado de Pernambuco e caracterização por padrões perineais e estudos com a isoenzima esterase. Através desta caracterização, os autores relataram a primeira ocorrência de *M. arenaria* e a detecção de *M. enterolobii* em cana-de-açúcar no Brasil.

Oliveira *et al.* (2012) realizaram um levantamento visando diagnosticar as espécies de nematóides associadas às principais espécies de bulbos ornamentais cultivados no Brasil coletadas nos municípios de Paraipaba-CE, Holambra-SP e Munhoz-MG. Nesse estudo, nematóides do gênero *Meloidogyne* ocorreram somente em 10% das amostras analisadas, e foi possível identificar a ocorrência pela primeira vez no Brasil da espécie *M. incognita* em bulbos de *Colocasia* sp. e *Polianthes tuberosa* provenientes de Holambra-SP.

Segundo Gomes e Novartti (1985) os dados de levantamento populacionais ou de ocorrência de nematoides, quando analisados simultaneamente com dados de produtividade, tipo de solo, variedades, tratos culturais e outros, permitem a identificação de áreas com problemas causados por fitonematoides, onde essas áreas identificadas tornam-se passíveis de serem manejadas. O levantamento de plantas hospedeiras naturais de nematoides das galhas torna-se ferramenta importante numa localidade tanto para se conhecer as espécies do patógeno presente como para identificar as espécies hospedeiras da região, as quais podem possibilitar a multiplicação e a sobrevivência do nematoide na área agrícola.

## REFERÊNCIAS

- ADECE. **Perfil da produção de frutas Brasil Ceará**, 2013. Disponível em: <[http://www.adece.ce.gov.br/phocadownload/Agronegocio/perfil\\_da\\_producao\\_de\\_frutas\\_brasil\\_ceara\\_2013\\_frutal.pdf](http://www.adece.ce.gov.br/phocadownload/Agronegocio/perfil_da_producao_de_frutas_brasil_ceara_2013_frutal.pdf)>. Acesso em: 05 fev. 2014.
- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5. ed. San Diego, Califórnia: Academic Press, 922p. 2005.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTALIÇAS, 2013. Disponível em: <[http://www.icna.org.br/sites/default/files/artigo/Anuario\\_hortalicas\\_2013\\_0.pdf](http://www.icna.org.br/sites/default/files/artigo/Anuario_hortalicas_2013_0.pdf)>. Acesso em: 05 fev. 2014.
- ALFENAS, A.C.; BRUNE, W. Eletroforese em gel de ploacrilamida. In: ALFENAS, A.C. (Ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa, MG: Editora UFV, p. 151-182. 2006.
- ALMEIDA, E.J.; SOARES, L.M.; SILVA, A.R.; SANTOS, J.M. Novos registros sobre *Meloidogyne mayaguensis* no Brasil e estudo morfológico comparativo com *M. incognita*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba. v.32, n.3, p. 236-241. 2008.
- ALONSO, S.K.; ALFENAS, A.C. Isoenzimas na taxonomia e na genética de fitonematóides. In: ALFENAS, A.C. (Ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa, MG: Editora UFV, p. 525-543. 2006.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides de galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n.1, p. 35-44. 2001.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A.; BRAGA, R.S. ALMEIDA, C.A.; GIORIA R. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* parasitando plantas de tomate e pimentão resistentes à meloidoginose no Estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.30, p. 81-88. 2006.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A.; CARNEIRO, R.G. Enzyme phenotypes of brazilian isolates of *Meloidogyne* spp. **Fundamental and Applied Nematology**, v.19. p. 555-560. 1996.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A.; GOMES, A.C.M.M. Primeiro registro de *Meloidogyne hispânica* Hirschmann, 1986 em abóbora no estado da Bahia, Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 28, n. 2, p. 215-218. 2004.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A.; QUENHERVE, P. Enzyme phenotype of *Meloidogyne* spp. populations. **Nematology**, v.2, p. 645-654. 2000.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; CARNEIRO, R.G.; NEVES, D.L.;ALMEIDA, M.R.A. Nova raça de *Meloidogyne javanica* detectada em *Arachis pintoi* no Estado do Paraná. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n.2, p. 219-221. 2003.

CARNEIRO, R.M.D.G.; CASTAGNONE-SERENO, P. DICKSON, D. Variability among four populations of *Meloidogyne javanica* from Brazil. **Fundamental and Applied Nematology**, v.21, p. 319-326. 1998.

CARNEIRO, R.M.D.G.; MOREIRA, W.A.; ALMEIDA, M.R.A.; GOMES, A.C.M.M. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v.25, n.2, p. 223-228. 2001.

CARNEIRO, R. M. D. G.; SANTOS, M. F. A. dos, ALMEIDA, M. R. A., MOTA, F. C., GOMES, A. C. M. M., TIGANO, M. S. Diversity of *Meloidogyne arenaria* using morphological, cytological and molecular approaches. **Nematology**, v.10, n.6, p. 819-834. 2008.

CASTRO, J.M.C.; LIMA, R.D.; CARNEIRO, R.M.D.G. Variabilidade isoenzimática de populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de regiões brasileiras produtoras de soja. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n.1, p.1-12. 2003.

CHARCHAR, J.M.; ARAGÃO, F.A.S. Reprodução de *Meloidogyne* spp. em cultivares de tomate e pepino sob estufa plástica e campo. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.29, n.2, p. 243-249. 2005.

CHITWOOD, D.J.; PERRY, R.N. Reproduction, physiology and biochemistry. In: PERRY, R.N.; MOENS, M.; STARR, J.R. (Ed.). **Root-knot Nematodes**. Cambridge, MA, USA, CABI International, p. 182-200. 2009.

COFCEWICZ, E.T.; MEDEIROS, C.A.B.; CARNEIRO, R.M.D.G.; PIEROBOM, C.R. Interação dos fungos micorrízicos arbusculares *Glomus etunicatum* e *Gigaspora margarita* e o nematoide das galhas *Meloidogyne javanica* em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n.1, p.65-70, março. 2001.

DIAS-ARIEIRA, C.R.; FURLANETTO, C.; SANTANA, S.M.; BARIZÃO, D.A.O.; RIBEIRO, R.C.F.; FORMENTINI, H.M. Fitonematoides associados a frutíferas na região Noroeste do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n.4, p.1064-1071. 2010.

EISENBACK, J.D.; HUNT, D.J. General morphology. In: PERRY, R.N.; MOENS, M.; STARR, J.R. (Ed.). **Root-knot Nematodes**. Cambridge, MA, USA, CABI International, p.18-50. 2009.

EISENBACK, J.D.; TRIANTAPHYLLOU, H.H. Root-knot nematode: *Meloidogyne* spp. and races. In: NICKLE, W.R. (Ed.). **Manual of agricultural nematology**. New York, NY, USA, p.191-274. 1991.

ESBENSHADE, P.R.; TRIANTAPHYLLOU, A.C. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**. v. 17, n.1, p.6-20. 1985.

ESBENSHADE, P.R.; TRIANTAPHYLLOU, A.C. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**. v. 22, n.1, p.10-15. 1990.

FERNANDES, C.F.; VIEIRA JÚNIOR, J.B.; SILVA, D.S.G. Fitopatógenos associados a culturas em Porto Velho, Rondônia. Circular Técnica 97. Embrapa Rondônia. Outubro, 2007.

FERRAZ, L.C.C.B.; MONTEIRO, A.R. Nematoides. In: BERGAMIN FILHO, A. AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M. (Org.). **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. Volume 1. 4 ed. São Paulo, Agronômica Ceres, v.1, p. 277-305. 2011.

FERRAZ, S.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A.; DIAS-ARIEIRA, C.R. **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa, MG: Editora UFV, v.1. 306 p. 2012.

FREIRE, F.C.O; MOSCA, J.L. Patógenos associados a doenças de plantas ornamentais no estado do Ceará. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 15, n 1, p.83-89, 2009.

FREITAS, L.G.; LIMA, R.D.L.; FERRAZ, S. **Introdução à nematologia**. Viçosa: UFV, 84p. (Cadernos didáticos). 2008.

FREITAS, L.G.; NEVES, W.S.; OLIVEIRA, R.D.L. Método em Nematologia Vegetal. In: ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa:UFV, p.253-292. 2007.

FREITAS, L.G.; OLIVEIRA, R.D.L.O; FERRAZ, S. Nematoides como patógenos de plantas. In: ZAMBOLIM, L.; JESUS JUNIOR, W.C.; PEREIRA, O.L. **O essencial da fitopatologia: agentes causais**. Volume 2.Viçosa, MG: UFV, DFP, 417p. 2012.

GOMES, C.B.; COUTO, M.E.O.; CARNEIRO, R.M.D.G. Registro de ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e fumo no Sul do Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 32, n.3, p. 244-247. 2008.

GOMES, R.S.; NOVARETTI, W.R.T. Levantamento de nematoides da cana-de-açúcar na usina Bonfim. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.9, p.135-142, 1985.

GRECO, N.; DI VITTO, M. Population dynamics and damage levels. In: PERRY, R.N.; MOENS, M.; STARR, J.R. (Ed.). **Root-knot Nematodes**. Cambridge, MA, USA, CABI International, p.246-274. 2009.

HARTMAN, K.M; SASSER, J.N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal patterns morphology. In: BARKER, K.R.; CARTER, C.C.; SASSER, J.N. (Ed.). **An advanced treatise on Meloidogyne**. V.2. Methodology. North Carolina State University Graphics, Raleigh, p.69-77. 1985.

HUNT, D.J.; HANDOO, Z.A. Taxonomy, identification and principal species. In: PERRY, R.N.; MOENS, M.; STARR, J.R. (Ed.). **Root-knot Nematodes**. Cambridge, MA, USA, CABI International, p.55-88. 2009.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2013. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=1612&z=p&o=27>>. Acesso em: 07 fev. 2014.

KUBO, R.K.; MACHADO, A.C.Z.; OLIVEIRA, C.M.G. Efeito do tratamento de sementes no controle de *Rotylenchulus reniformis* em dois cultivares de algodão. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.79, n.2, p. 239-245, abr./jun. 2012.

LIMA, I.M.; DOLINSKI, C.M.; SOUZA, R.M. Dispersão de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabais de São João da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros dentre plantas invasoras e cultivadas. **Nematologia Brasileira**, v.27, n.2, p.257-258. 2003.

LIMA, I.M.; SOUZA, R.M.; SILVA, C.P.; CARNEIRO, R.M.D.G. *Meloidogyne* spp. from preserved areas of Atlantic Forest in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Nematologia Brasileira**, v.29, n.1, p. 31-38. 2005.

LOPES, E.A.; FERRAZ, S.; FREITAS, L.G.; FERREIRA, P.A.; AMORA, D.X. Efeito da incorporação da parte aérea seca de mucuna preta e de tomateiro ao solo sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v.29, n.1, p. 101-104. 2005.

LORDELLO, L.G.E. **Nematóides das plantas cultivadas**. 8.ed. São Paulo: Nobel, 314p. 1994.

MANSO, E.C.; TENENTE, R.C.V.; FERRAZ, L.C.B.; OLIVEIRA, R.S.; MESQUITA, R. **Catálogo de nematóides fitoparasitas encontrados, associados a diferentes tipos de plantas no Brasil**. Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 488 p. 1994.

MOENS, M.; PERRY, R.N.; STARR, J.L. *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important species. In: PERRY, R.N.; MOENS, M.; STARR, J.R. (Ed.). **Root-knot Nematodes**. Cambridge, MA, USA, CABI International, p.1-17. 2009.

MORITZ, M.P.; LIMA, A.C.C.; NAKAMURA, K.C.; CARNEIRO, R.G. Reação de cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor*) as raças 1 e 3 de *Meloidogyne incognita* e a *M. paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 211-214. 2003.

MOURA, R.M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. In: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.C.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.4, p.209-245. 1996.

MOURA, R.M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte II. In: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.C.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.5, p. 281-315. 1997.

MOURA, R. M. et al. *Meloidogyne* species detected in sugarcane fields in the state of Pernambuco, Brazil. In: International Congress of Tropical Nematology, 2009, Alagoas. **Resumos**, Alagoas: SBN, 2009.

MOURA, R.M.; MOURA, A.M. Meloidoginose da goiabeira: doença de alta severidade no estado de Pernambuco, Brasil. **Nematologia Brasileira**, v.13, p. 13-19. 1989.

NEVES, W. S.; DIAS, M. S. C.; BARBOSA, J. G. Flutuação populacional de nematoides em bananais de Minas Gerais e Bahia (anos 2003 a 2008). **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.33, n.4, p. 281-285. 2009.

NYCZEPIR, A.P.; THOMAS, S.H. Current and future management strategies in intensive crop production systems. In: PERRY, R.N.; MOENS, M.; STARR, J.R. (Ed.) **Root-knot Nematodes**. Cambridge, MA, USA, CABI International, p.412-443. 2009.

OLIVEIRA, C.M.G.; KUBO, R.K. Nematóides parasitos de plantas ornamentais. In: REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO, XIV (Plantas Ornamentais), Pariquera-Açu. **Anais...**, p. 27-33. 2006.

OLIVEIRA, D.S. Patogenicidade de populações de *Meloidogyne incognita*, provenientes de Minas Gerais e São Paulo, ao cafeeiro. 2006. 75p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2006.

OLIVEIRA, D.S.; OLIVEIRA, R.D.L.; GONÇALVES, W. Fenótipo S1 de esterase em *Meloidogyne incognita* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, n.2, p. 207, 2006.

OLIVEIRA, R.D.L.; SILVA, M.B.; AGUIAR, N.D.C.; BERGAMO, F.L.K.; COSTA, A.S.V.; PREZOTTI, L. Nematofauna associada à cultura do quiabo na região leste de Minas Gerais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.25, n.1, p. 88-93. 2007.

PAES, V. S.; SOARES, P.L.M.; MURAKAMI, D. M.; SANTOS, J.M. S. BARBOSA, B.F.F.; NEVES, S.S. Ocorrência de *Meloidogyne enterolobii* em muricizeiro (*Byrsonima cydoniifolia*). **Tropical Plant Pathology**, v.37, n.3, p. 215-219. 2012.

PINHEIRO, J.B.; CARVALHO, A.D.F.; VIEIRA, J.V. **Manejo do nematóide-das-galhas (*Meloidogyne* spp.) em cultivos de cenoura na região de Irecê – BA**. Comunicado Técnico 77. Brasília, DF. Novembro, 2010.

PONTE, J.J. Nematóides das galhas: espécies ocorrentes no Brasil e seus hospedeiros. Mossoró: ESAM: Coleção Mossoroense vol. LIV, Mossoró (RN). 100 p. 1977.

PONTE, J.J. **Cartilha da manipueira: uso do composto como insumo agrícola**. 2ª. Ed. Fortaleza, Secretaria da Ciência e Tecnologia do Estado Ceará (SECITECE). 52p. 2002.

PONTE, J.J.; HOLANDA, Y.C.A.; ARAGÃO, M.L. Adendo ao Catálogo de Plantas Hospedeiras de *Meloidogyne* no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v.20, n.1, p.73-81. 1996.

POZZA, E.A.; ALVES, E. **Princípios e conceitos em manejo de doenças de plantas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 44p. 2000.

RAMMAH, A.; HIRSCHMANN, H. Morphological comparison of three host races of *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v.22, n.1, p.56-68. 1990.

RITZINGER, C.H.S.P.; BORGES, A.L.; LEDO, C.A.S.; CALDAS, R.C. Fitonematoides associados a bananais ‘pacovan’ sob condição de cultivo irrigado: relação com a produção. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.29, n.3, p. 677-680. 2007.

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

SANTOS, J.M.; TRIANTAPHYLLOU, H.H. Determinação dos fenótipos isoenzimáticos e estudos comparativos da morfologia de 88 populações de *Meloidogyne* spp., parasitas do cafeeiro. **Nematologia Brasileira**, v.16, n.(1 e 2), p.88. 1992.

SHARMA, R.D.; GOMES, A.C. Controle Biológico de *Meloidogyne arenaria* com *Pasteuria penetrans*. **Nematologia Brasileira**, v.23, n.1, p.47-52. 1999.

SILVA, G.S. Métodos alternativos de controle de fitonematóides. In: LUZ, W.C.; LUZ, E.D.M.N.; JULIATTI, F.C.; ZERBINI, F.M.; SANTOS, I.; RESENDE, M.L.V.; PASCHOLATI, S.F. (Ed.) **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.19, p.81-152. 2011.

SILVA, G.S.; KRASUSKI, A.I. Reação de algumas espécies frutíferas tropicais a *Meloidogyne enterolobii*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.36, n. (3 e 4), p.86-83. 2012.

SILVEIRA, S.G.P.; CURTI, S.M.; ELIAS, R.; PRATES, I.S. Levantamento de nematoide *Meloidogyne hapla* na cultura do morangueiro no Estado de São Paulo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.24, n.5, p. 583-586, maio. 1989.

SOMAVILLA, L.; GOMES, C.B.; CARBONARI, J.J.; CARNEIRO, R.M.D.G. Levantamento e caracterização de espécies do nematóides das galhas em quivi no Rio Grande do Sul, Brasil. **Tropical Plant Pathology**, vol. 36, n.2, p. 89-94. 2011.

SOUZA, M.R.; NOGUEIRA, M.S.; LIMA, I.M.; MELARATO, M.; DOLINSK, C.M. Manejo do nematóide das galhas da goiabeira em São João da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros. **Nematologia Brasileira**, v.30, n.2 p.165-169. 2006.

TENENTE, R.C.V.; GONZAGA, V.; MELO, L.A.M.P.; MUNHOZ TENENTE, S.M. **Bibliografia brasileira de nematóides**. v.2. Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 400 p. 2002. (Documento 76).

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

TIHOHOD, D. **Guia prático para a identificação de fitonematóides**. Jaboticabal: FCAV, FAPESP, 246p. 1997.

TORRES, G.R.C.; MEDEIROS, H.A.; SALES JR., R.; MOURA, R.M. *Meloidogyne mayaguensis*: novos assinalamentos no Rio Grande do Norte associados à goiabeira. **Revista Caatinga**, v.20, n.2, p.106-112. 2007.

VENTURA, J.A; HINZ, R. H. Controle das doenças da bananeira. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; MONTEIRO, A.J.A.; COSTA, H. (Ed.). **Controle de doenças de plantas: fruteiras**. v.2. p.839- 937. 2002.

YANG B.; EISENBACK JD. *Meloidogyne enterolobii* n. sp. (Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing pacara earpode tree in China. **Journal of Nematology**. v. 15, n.1, p. 381-391. 1983.

## **CAPÍTULO I**

### **LEVANTAMENTO DE ESPÉCIES DE *Meloidogyne* PRESENTES EM ÁREAS AGRÍCOLAS EM DIFERENTES MICRORREGIÕES NO ESTADO DO CEARÁ**



## RESUMO

O gênero *Meloidogyne* é considerado o mais importante dos fitonematóides, uma vez que os nematoides das galhas constituem uma grande ameaça à agricultura em razão das elevadas perdas provocadas aos cultivos de fruteiras, hortaliças, plantas medicinais e ornamentais em todo o mundo. Proceder a identificação das espécies de *Meloidogyne* presentes numa região é informação primordial para o conhecimento da diversidade e dispersão populacional, além de possibilitar adoções de medidas efetivas de controle. Informações atualizadas sobre as espécies de *Meloidogyne* que afetam plantas em pólos agrícolas no Estado do Ceará, ainda são escassas, o que dificulta apontar as associações predominantes entre culturas e espécies de *Meloidogyne*. Tornou-se objetivo deste trabalho identificar espécies e raças de *Meloidogyne* em regiões produtoras de frutíferas e hortaliças no Estado do Ceará. O fenótipo da enzima esterase foi empregado na caracterização das espécies e para a determinação das raças empregaram-se as plantas hospedeiras diferenciadoras. Oitenta e três amostras de plantas infestadas foram coletadas em 22 municípios em áreas produtoras do estado pertencentes a 10 diferentes microrregiões. Das 83 populações, 27 apresentaram fenótipos típicos de *M. incognita*, 17 de *M. enterolobii*, 15 de *M. javanica*, cinco de *M. arenaria* e uma de *M. hapla*. Seis populações apresentaram fenótipos de esterase distintos daqueles conhecidos para as espécies de *Meloidogyne* já relatadas no Brasil. As raças fisiológicas de *M. incognita* encontradas nas plantas investigadas foram as raças 2 e 3, para *M. arenaria* foi encontrada a raça 1 e para *M. javanica* a raça 2.

**Palavras-chaves:** Nematóide das galhas. Esterase. Eletroforese. Identificação de espécies.

## ABSTRACT

The *Meloidogyne* genus is considered the most important of the nematodes, since nematodes are a major threat to agriculture, as the high losses caused to the crops of fruits, vegetables, medicinal and ornamental plants worldwide. An identification of the *Meloidogyne* species present in a region, is an essential information for understanding the diversity and the population dispersion, in order to enable the adoption of an effective measures for control. An updated information in the *Meloidogyne* species that affect plants in the agricultural centers of the Ceará State is scarce, therefore, making it difficult to point out the predominant associations between cultures and species of the *Meloidogyne*, under these circumstances, it has become the objective of this study for the collection and identification of the species, as well as the races of the *Meloidogyne* producing regions for fruits and vegetables in the State of Ceará. The phenotype of the enzyme esterase was employed in the characterization of the species and breeds for the determination process duly applied in the differentiating the host plants. A total of eighty three samples were collected from the infested plants in the producing areas of twenty three municipalities in the State of Ceará, which belongs to eleven different micro-regions. The root system for all the plants was duly washed and at least eight females were taken from each root galls for the identification of the level in the species. The female maturations were individually grounded in the appropriate buffer for the extraction of the isoenzymes extracts and added to the wells of a polyacrylamide gel, in order to determine the patterns of the esterase in the electrophoresis. Out of the eighty three populations, twenty seven of them had typical phenotypes of the *M. incognita*, being seventeen of *M. enterolobii*, fifteen of *M. javanica*, five of *M. arenaria* and one of the *M. hapla*. Six of the populations showed distinct esterase phenotypes from those known in the *Meloidogyne* species, reported earlier in Brazil. The two and three races were duly found in the physiological races of the *M. incognita*, while the race one was found in the *M. arenaria*, as well as the race two in the *M. javanica*.

Keywords: Root-knot nematodes. Esterase. Electrophoresis. Identification of species.

## 1 INTRODUÇÃO

Os fitonematóides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* encontram-se amplamente disseminados pelo Brasil, sendo responsáveis pela redução na produtividade de diversas fruteiras e hortaliças à medida que as áreas de cultivo vão se expandindo. Contribuem para esse prejuízo a alta capacidade reprodutiva desses patógenos, o que leva a um rápido crescimento das populações no campo, e o fato de serem espécies perfeitamente adaptadas às condições edafoclimáticas brasileiras (FERRAZ; MONTEIRO, 2011). *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood, *M. arenaria* (Neal) Chitwood e *M. hapla* Chitwood são as espécies comumente relacionadas com a infestação de plantas cultivadas no Brasil. Além destas espécies, já foram também registradas no país a *M. exigua* Goldi, 1887, *M. coffeicola* Lordello e Zamith, 1960, *M. graminicola* Golden e Birchfield, 1965, *M. hispanica* Hirschmann, 1986, *M. thamesi* Chitwood in Chitwood, Specht & Havis, 1952 (Goodey, 1963), *M. ethiopica* Whitehead, 1968, *M. enterolobii* Yang e Eisenback, 1983, *M. paranaensis* Carneiro, Carneiro, Abrantes, Santos e Almeida, 1996, *M. petuniae* Charchar, Eisenback e Hirschmann, 1999 e *M. moroccensis* Rammah e Hirschmann, 1990 (CASTRO *et al.*, 2003; CARNEIRO *et al.*, 2003, 2004, 2008; HUNT; HANDOO, 2009; TENENTE *et al.*, 2002).

Os fitonematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* são conhecidos como nematoides das galhas por causar engrossamento das raízes, em razão da hiperplasia e hipertrofia de células e tecidos. As galhas formadas no sistema radicular das plantas compromete a absorção de água e nutrientes provocando sintomas secundários de subdesenvolvimento e deficiência nutricional (TIHOHOD, 1993; FREITAS *et al.*, 2012).

Inúmeras espécies de plantas como hortaliças, fruteiras, plantas ornamentais, medicinais e vegetação espontânea são parasitadas pelos nematóides das galhas, nos quais provocam grandes perdas e, em alguns casos, podem até ser considerados como fator limitante ao cultivo (MANSO *et al.*, 1994; CARNEIRO *et al.*, 1996; FREITAS *et al.*, 2012).

Entre os métodos empregados na diagnose de *Meloidogyne* spp. podemos citar: a análise da configuração perineal de fêmeas, a morfologia da região labial e do estilete de juvenis de segundo estágio, de machos e de fêmeas, teste de hospedeiras diferenciadoras, caracterização citogenética, eletroforese de isoenzimas e caracterização molecular (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990; TIHOHOD, 1993; CARNEIRO; ALMEIDA, 2001).

Anteriormente, o reconhecimento da identidade desses nematoides em nível de espécie era realizado, principalmente, por meio do exame de configuração perineal. Contudo,

a identificação baseada nesse tipo de observação isoladamente tornou-se inapropriada devido às variações intraespecíficas já detectadas e, sobretudo, em razão da similaridade e da sobreposição dessa característica entre espécies. Além disso, é comum o surgimento de populações com configurações perineais atípicas, o que aumenta a dificuldade de utilização destas para fins taxonômicos (CASTRO *et al.*, 2003). Adicionalmente, identificações confiáveis baseadas na morfologia passaram a ser consideradas uma tarefa árdua mesmo para um nematologista qualificado e especializado no gênero *Meloidogyne* (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001). Porém, diante da importância do gênero *Meloidogyne* é necessário que a identificação da espécie seja realizada corretamente, para que sejam adotadas as práticas de manejo adequadas, como rotação de cultura e o uso de variedades resistentes (MOURA, 1996).

Desse modo, frente às dificuldades encontradas com a utilização da configuração perineal em trabalhos de diagnose no Brasil, a técnica de eletroforese de isoenzimas vem sendo adotada com o emprego da análise de padrões enzimáticos considerados adequados em estudos de reconhecimento de *Meloidogyne* spp. O avanço alcançado com essa metodologia, cujos trabalhos iniciais com *Meloidogyne* datam de 1971 (DICKSON, *et al.*, 1971; ESBENSHADE.; TRIANTAPHYLLOU, 1990), transformou-a numa ferramenta indispensável na diagnose diferencial de espécies do nematoide das galhas (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001).

Segundo Neves *et al.* (2009), dados obtidos em levantamentos e identificações de espécies de nematoides associados às culturas e a determinação da sua distribuição numa localidade, possibilita o início de estudos a respeito da biologia, ecologia e de métodos de controle de nematoides gerando importantes informações visando principalmente a adoção de medidas de controle antes que os patógenos atinjam o nível de dano econômico.

Diante do exposto, o presente trabalho teve os seguintes objetivos:

- 1) Identificar e quantificar as espécies de *Meloidogyne* associadas às plantas frutíferas, hortaliças, ornamentais, medicinais e silvestres coletadas;
- 2) Identificar as raças das espécies de nematoides mais comumente encontradas na região;
- 3) Verificar espécies e raças predominantes associadas às espécies vegetais coletadas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Coletas das amostras em campo

Um total de 83 amostras de raízes e, ou de plantas infestadas pertencentes a 48 espécies vegetais de 25 famílias botânicas diferentes foram coletadas em 22 municípios em áreas produtoras no Estado do Ceará (Tabela 1) pertencente a 11 diferentes microrregiões localizadas no norte do Estado que envolve cinco polos agrícolas irrigados: Limoeiro do Norte e Tabuleiro do Norte (Microrregião do Baixo Jaguaribe), Pacoti, Baturité e Aracoiaba (Microrregião de Baturité), Pindoretama (Microrregião de Cascavel), Fortaleza, Aquiraz, Guaiuba, Maranguape e Pacatuba (Microrregião de Fortaleza), São Benedito, Guaraciaba do Norte e Tianguá (Microrregião da Ibiapaba), Acaraú e Marco (Microrregião de Camocim e Acaraú), Paraipaba (Microrregião do Baixo Curu); Pentecoste e Tejuçuoca (Microrregião do Médio Curu), Jaguaribara (Microrregião do Médio Jaguaribe), Pacajus (Microrregião de Pacajus) e Sobral (Microrregião de Sobral).

Em municípios localizados nas microrregiões de Quixeramobim e de Canindé, incluídas nas visitas, não possibilitaram a obtenção de amostras de plantas infestadas em razão da estiagem existente no período em que foram realizadas as coletas (2011 -2013).

A localização geográfica dos municípios nos quais foram procedidas as coletas está apresentada na Figura 4.

As amostras coletadas foram conduzidas ao Laboratório de Fitopatologia, Setor de Fitossanidade do Departamento de Fitotecnia, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, para as devidas observações, análises, registro fotográfico, e anotações de interesse. No Laboratório, as raízes foram lavadas para remoção de solo e serem examinadas. Algumas das amostras de raízes de plantas infestadas coletadas em campo estão ilustradas na Figura 5.

Todo o material vegetal coletado nos diferentes municípios do Estado, antes mesmo de proceder à identificação da espécie, tinha parte das raízes empregada na obtenção de suspensão de nematoide a qual era empregada na inoculação de plantas suscetíveis com o objetivo de multiplicar e manter as populações de *Meloidogyne* spp. Posteriormente, de cada material infestado procedeu-se à caracterização morfológica por meio da observação da região perineal, caracterização isoenzimática com análise dos perfis de esterases e testes fisiológicos com inoculação de plantas indicadoras, para a identificação segura de espécies e de raças.

Tabela 1 - Relação das espécies vegetais coletadas nos diferentes municípios do Estado do Ceará para investigação de presença e identificação da espécie de *Meloidogyne*. Fortaleza-CE 2014.

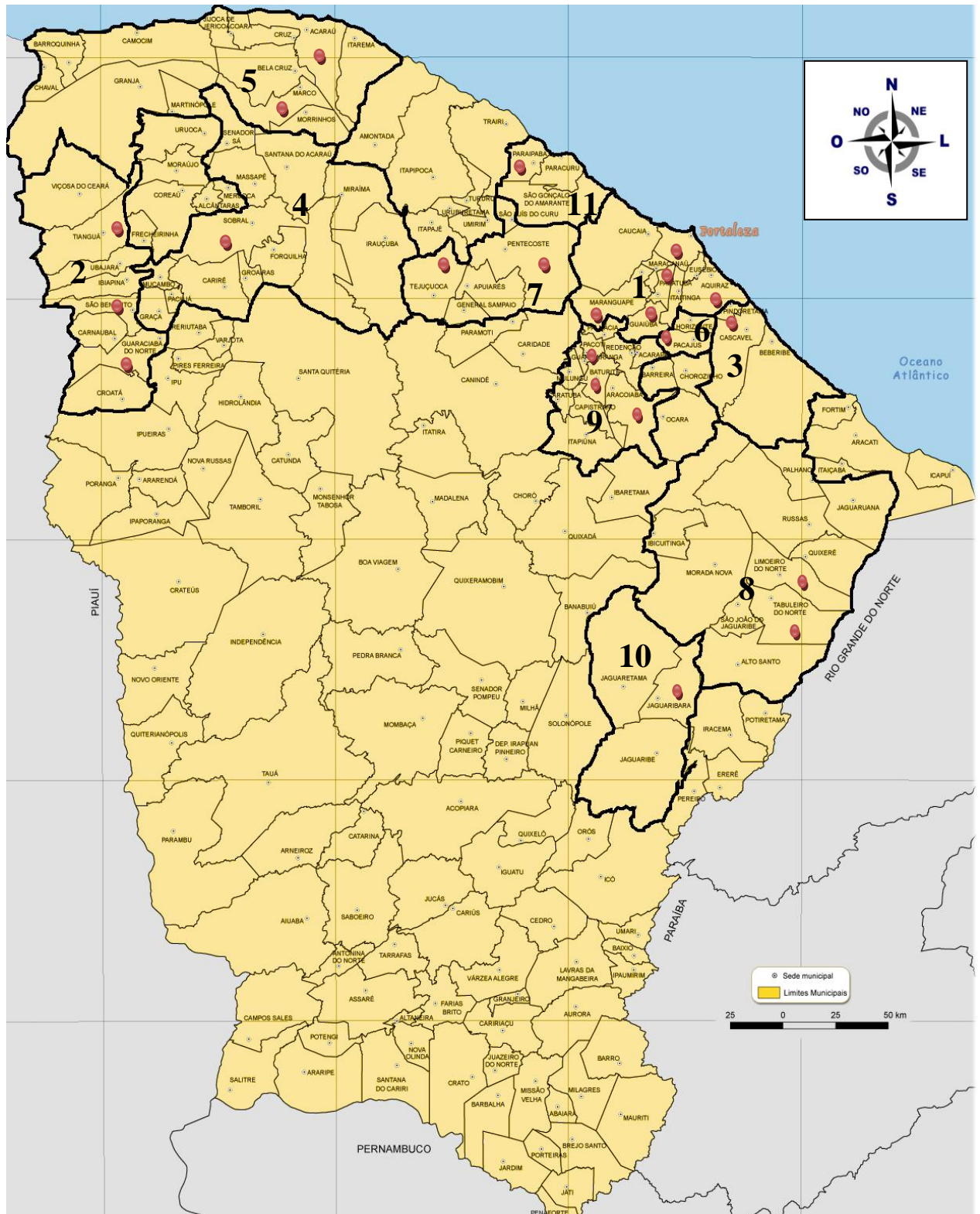
NOME COMUM	NOME CIENTÍFICO	FAMÍLIA	MUNICÍPIO
<b>HORTALIÇA</b>			
Acelga	<i>Beta vulgaris</i> var. <i>cicla</i> L. K. Koch	Amarantaceae	Aquiraz
Alface	<i>Lactuca sativa</i> L.	Asteraceae	Guaraciaba do Norte Tianguá
Abóbora	<i>Cucurbita pepo</i> L.	Cucurbitaceae	Sobral
Berinjela	<i>Solanum melongena</i> L.	Solanaceae	Fortaleza Sobral
Batata-doce	<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam	Convolvulaceae	Fortaleza
Beterraba	<i>Beta vulgaris</i> L.	Amarantaceae	Fortaleza Guaraciaba do Norte
Cenoura	<i>Daucus carota</i> L.	Apiaceae	Fortaleza Guaraciaba do Norte
Melão	<i>Cucumis melo</i> L.	Cucurbitaceae	Pacajus
Pimentão	<i>Capsicum annuum</i> L.	Solanaceae	Pentecoste
Pimenta tabasco	<i>Capsicum frutescens</i> L.	Solanaceae	Paraipaba
Pimenta de cheiro	<i>Capsicum chinensi</i> Jacq.	Solanaceae	São Benedito Fortaleza
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i> L.	Solanaceae	Pentecoste Pindoretama
Quiabo	<i>Abelmoschus esculentus</i> L.	Malvaceae	Guaraciaba do Norte Aracoiaba
Repolho	<i>Brassica capitata</i> L.	Brassicaceae	Guaraciaba do Norte
<b>FRUTEIRA</b>			
Acerola	<i>Malpighia glabra</i> L.	Malpighiaceae	Pacajus Acarauá Fortaleza

Acerola	<i>Malpighia glabra</i> L.	Malpigiaceae	Marco Pentecoste Tejuçuoca
Banana	<i>Musa</i> sp.	Musaceae	Acaraú Guaiuba Limoeiro do Norte Pentecoste
Caja	<i>Spondias mombin</i> L.	Anacardiaceae	Pacajus
Cajarana	<i>S. dulcis</i> Parkinson	Anacardiaceae	Pacajus Baturité Guaiuba Jaguaribara Maranguape
Mamão	<i>Carica papaya</i> L.	Caricaceae	Marco Pacatuba Paraipaba Tejuçuoca Guaiuba
Maracujá	<i>Passiflora edulis</i> Sims.	Passifloraceae	Marco
Sapoti	<i>Manilkara sapota</i> L.	Sapotaceae	Marco
Seriguela	<i>Spondia purpurea</i> L.	Anacardiaceae	Pentecoste
Umbu-cajá	<i>Spondia tuberosa</i> x <i>S. mombim</i>	Anacardiaceae	Pacajus
<b>ORNAMENTAL</b>			
Hypericum	<i>Hypericum</i> sp.	Hypericaceae	São Benedito
Celosia	<i>Celosia argentes</i> var. <i>spicata</i> L.	Amarantaceae	Pacoti
Maria-sem-vergonha	<i>Impatiens walleriana</i> L.	Balsaminaceae	Pentecoste
Roseira	<i>Rosa</i> sp.	Rosaceae	São Benedito
Pingo de ouro	<i>Duranta repens</i> L. var. <i>aurea</i>	Verbenaceae	Fortaleza
Ipê	<i>Tabebuia</i> sp.	Bignoniaceae	Pacajus

<b>MEDICINAL</b>			
Manjeriçã	<i>Ocimum basilicum</i> L.	Lamiales	Pacajus
Malva branca	<i>Sida cordifolia</i> L.	Malvaceae	Marco
			Fortaleza
			Fortaleza
Noni	<i>Morinda citrifolia</i> L.	Rubiaceae	Pacatuba
			Pacajus
			Acaraú
Jurubeba	<i>Solanum paniculatum</i> L.	Solanaceae	Pentecoste
Papaconha	<i>Hybanthus ipecacuanha</i> (L.) Oken.	Violaceae	Acaraú
Ingá	<i>Inga edulis</i> Mart.	Fabaceae	Pacajus
<b>PLANTAS SILVESTRES</b>			
Bredo, Caruru	<i>Amaranthus viridis</i> L.	Amarantaceae	Tejuçuoca
Botão de ouro	<i>Siegesbeckia orientalis</i> L.	Asteraceae	Guaiuba
			Tabuleiro do Norte
Canapum	<i>Physalis angulata</i> L.	Solonaceae	Guaiuba
Camará de cheiro	<i>Lantana camara</i> L.	Verbenaceae	Fortaleza
Corda de viola	<i>Ipomoea purpurea</i> (L.) Roth	Convolvulaceae	Acaraú
Falsa-Serralha	<i>Emilia fosbergii</i> Nicolson	Asteraceae	Acaraú
Maria-pretinha	<i>Solanum americanum</i> Mill	Solonaceae	Fortaleza
Tiririca	<i>Cyperus rotundus</i> L.	Cyperaceae	Tejuçuoca
<b>OUTRAS CULTURAS</b>			
Feijão comum	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Fabaceae	Limoeiro do Norte
Milho	<i>Zea mays</i> L.	Poaceae	Limoeiro do Norte
Palma	<i>Gladiolus</i> sp.	Cactaceae	Fortaleza
Cacto	<i>Cactus</i> sp.	Cactaceae	Fortaleza
Soja	<i>Glycine max</i> L.	Fabaceae	Limoeiro do Norte



Figura 4 - Mapa do Ceará com localização dos municípios e microrregiões onde foram coletadas as amostras de plantas infestadas para identificação de espécies de *Meloidogyne* no período de 2011 a 2013.



1-Microrregião de Fortaleza; 2- Ibiapaba; 3- Cascavel; 4- Sobral; 5- Litoral Camocim e Acaraú; 6- Pacajus; 7- Médio Curu; 8- Baixo Jaguaribe; 9- Baturité; 10- Médio Jaguaribe; 11- Baixo Curu.

Figura 5 - Raízes infestadas com *Meloidogyne* spp. coletadas de plantas em municípios do Ceará: (A) Acerola; (B) Banana; (C) Beterraba; (D) Tomate; (E) *Hypericum* sp. e (F) Roseira.



Fotos: M.C.L. Silva, 2012.

Em casa de vegetação, mudas de cóleus (*Solenestemon scutellarioides* L.), planta ornamental altamente suscetível ao nematoide das galhas comumente utilizada no setor de Fitopatologia da UFC para multiplicação do patógeno (SILVA; SANTOS, 2012), e mudas de tomate ‘Santa Clara’ foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade para 02 quilos contendo uma mistura de solo e esterco autoclavado na proporção 2:1. As mudas devidamente preparadas foram periodicamente inoculadas com suspensão de ovos e juvenis obtida individualmente de parte das raízes de cada uma das amostras coletadas nos diferentes municípios. A manutenção de cada população do nematoide era realizada periodicamente inoculando-se pelo menos duas mudas das citadas hospedeiras multiplicadoras contidas em vasos separados. Cada vaso inoculado recebeu uma etiqueta com a identificação do inóculo referindo-se aos nomes das plantas hospedeiras coletadas em campo e do respectivo município.

## **2.2. Procedimento para extração de nematoides das raízes e inoculação**

A extração de ovos e de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne* foi efetuada por meio da técnica de Coolen e D’Herde (1972). As raízes com galhas foram cortadas e trituradas em liquidificador com água e NaOCl a 0,5%. Após trituração, a suspensão foi vertida em peneiras de 20 mesh e de 400 mesh. Em seguida, a suspensão de nematoides foi recolhida em tubos plásticos adicionando-se caolim e centrifugando-se a 1.750 rpm por 5 minutos. Após descarte do sobrenadante, adicionou-se a cada tubo solução de sacarose a 45%, efetuando-se a ressuspensão do sedimento. Procedeu-se a uma nova centrifugação a 1.750 rpm por 1 minuto. O sobrenadante foi recolhido e, em seguida, realizada a contagem de ovos em câmara de Peters, para calibração da suspensão.

Para a inoculação foram empregados cerca de 4.000 ovos/J2 por planta de cóleus e, ou ‘Santa Clara’, com o objetivo de manter e preservar a população de *Meloidogyne* spp. coletadas em campo, conforme já referido. As plantas de cóleus e, ou tomateiro inoculadas foram individualmente identificadas com etiquetas nos vasos e mantidas em casa de vegetação ( $29^{\circ} \pm 4^{\circ}\text{C}$ ).

## **2.3 Caracterização morfológica das espécies de *Meloidogyne***

Para a caracterização morfológica, ou seja, a identificação da espécie de *Meloidogyne* mediante observação da configuração perineal, fêmeas de raízes de plantas



infestadas com o nematoide mantidas em casa de vegetação foram individualmente examinadas. Utilizando-se estilete e sob microscópio estereoscópico (lupa), quatro a cinco fêmeas foram retiradas da raiz de cada planta e colocadas numa lâmina de microscopia com uma gota de água destilada. Com auxílio de uma lâmina de barbear ou bisturi procedeu-se ao corte da região perineal. Em seguida, colocou-se sobre o corte da fêmea uma lamínula para exame ao microscópio óptico visando a identificação das espécies com base nos conhecidos padrões de configurações definidos na literatura, o qual considera o formato do arco dorsal, as características do campo lateral e das linhas que envolvem a vulva e o ânus. O registro fotográfico ao microscópio óptico foi realizado para cada uma das espécies identificadas.

#### **2.4 Caracterização isoenzimática das populações de *Meloidogyne* spp.**

Para a segura identificação das espécies por meio da eletroforese de isoenzimas, foram retiradas fêmeas de raízes de plantas infestadas com o nematoide mantidas em casa de vegetação. As fêmeas foram preferencialmente retiradas de várias partes de um mesmo sistema radicular objetivando, com isso, encontrar espécies diferentes, caso presentes. Fêmeas de coloração branco-leitosa e em plena oviposição, foram individualmente transferidas para microtubos (marca Eppendorf) de 1,5 ml contendo 15µL de solução tampão para extração de proteínas (20% sacarose, 2% de Triton X-100, 0,01% de azul de bromofenol e 78% de água destilada). Em seguida, essas fêmeas foram maceradas no tampão com pistilo plástico para aplicação no gel de poliacrilamida. Empregou-se o método descontínuo de eletroforese vertical em géis de poliacrilamida (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990; CARNEIRO; ALMEIDA, 2001; ALFENAS; BRUNE, 2006).

Os géis de empilhamento e o de corrida foram preparados, respectivamente, em duas concentrações: 4 % (500 µL de bis-acrilamida, 1,25 mL de tris-HCl (pH 6,8), 45 µL de persulfato de amônio, 10 µL de temed e 3,10 mL de água destilada) e 7,5 % (2,5 mL de bis-acrilamida, 1,88 mL de tris-HCl (pH 8,8), 45 µL de persulfato de amônio, 10 µL de temed e 5,75 mL de água destilada). Um pente de teflon de 10 cavidades foi introduzido no gel de empilhamento e após sua polimerização o mesmo foi retirado formando 10 poços no gel para distribuição das amostras. Nas cavidades desse gel foram adicionados 10µL da extração de proteínas obtidas das fêmeas individualmente maceradas. A amostra padrão, comumente empregada nas análises eletroforéticas, e neste trabalho usada em todos os géis, consistiu de extratos proteicos da espécie *M. javanica*, os quais foram distribuídos em pelo menos uma das cavidades de cada gel. A eletroforese foi conduzida a 4°C no interior de um refrigerador, sob

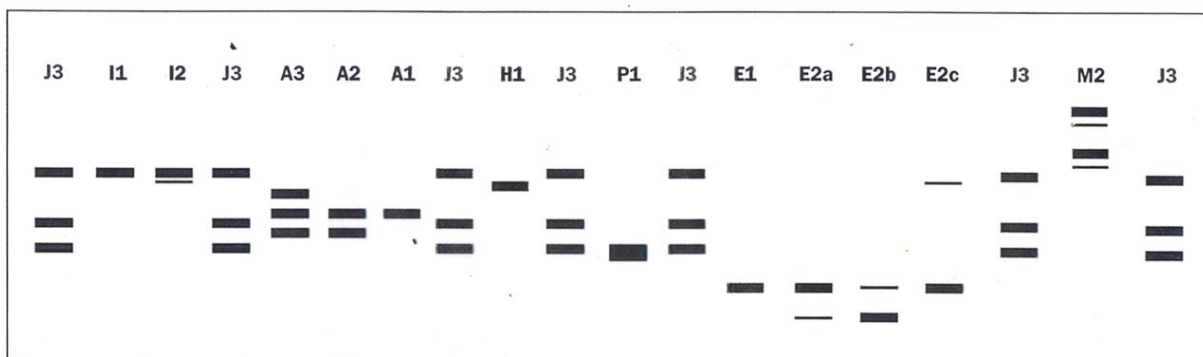
voltagem constante de 80 V na corrida de empilhamento (30-40 minutos) e a 200V para a etapa de separação no gel de corrida (40-60 minutos). Ao final do tempo determinado, os géis foram retirados das placas e transferidos para um recipiente de vidro contendo solução de revelação para a enzima esterase (100 mL de solução tampão fosfato, 100 mg de Fast Blue RR Salt e 4,5 mL de  $\alpha$ -naftilacetato 1%), onde permaneceu incubado no escuro, em estufa a 37°C, por 30 minutos. Após a revelação, os géis foram transferidos para uma solução fixativa (45% de metanol, 9% de ácido acético e 45% de água destilada), incubado no escuro, em estufa a 37°C por 20 minutos.

Para a secagem do gel, utilizou-se uma folha de papel-celofane (20 x 20 cm) umedecida estendida sobre o arco interno de um bastidor de madeira apoiado sobre um disco de isopor com espessura igual à espessura do bastidor. O gel foi colocado sobre o papel-celofane e, em seguida, coberto com outra folha de papel-celofane, igualmente umedecida. Posteriormente pressionou-se o arco externo do bastidor que cobria a segunda folha do celofane, de forma que permanecesse bem esticado e firme. Diminutas perfurações com a ponta de estilete foram feitas no papel-celofane, às margens do gel, para remoção de bolhas e para facilitar a evaporação da água. Após a secagem (3 a 4 dias) em temperatura ambiente, o gel preso ao celofane, foi removido dos bastidores, etiquetado com a devida análise dos resultados pela observação das bandas e comparação com o padrão *M. javanica*. Após a secagem, os géis foram escaneados para efeito do devido registro das espécies identificadas. Os perfis isoenzimáticos das diferentes populações obtidas das plantas coletadas foram interpretados segundo os autores Esbenshade e Triantaphyllou (1990) (Figura 6).

Eventualmente fêmeas trituradas no tampão de extração eram mantidas a - 20°C por até dois meses para uso numa requerida repetição de ensaio, ou para preservar as amostras tendo em vista o acúmulo de material para análise. Fêmeas de *M. javanica*, usadas como padrão, foram igualmente submetidas ao mesmo congelamento.

Em alguns casos empregou-se a maceração de pelo menos cinco fêmeas em único microtubo e deste obteve-se uma amostra para aplicar em um único poço do gel. O objetivo deste teste foi verificar se havia a infestação mista de espécies de *Meloidogyne* em uma mesma planta coletada.

Figura 6 - Principais fenótipos de esterase (EST) das espécies de *Meloidogyne* spp. mais comuns no Brasil.



J3= *Meloidogyne javanica* (padrão), I1 e I2 = *M. incognita*, A3, A2 e A1 = *M. arenaria*, H1 = *M. hapla*, P1 = *M. paranaensis*, E1, E2a, E2b e E2c = *M. exigua* e M2 = *M. enterolobii*.

Fonte: CARNEIRO (2006).

## 2.5 Caracterização fisiológica das populações de *Meloidogyne*

Nove populações de *M. incognita* identificada após eletroforese, provenientes das culturas de alface, acerola, cajarana, cenoura, ipê, melão, quiabo, tomate, umbu-cajá, duas populações de *M. javanica* provenientes das culturas da banana e cajá e uma população de *M. arenaria* proveniente da ornamental pingo de ouro, foram submetidas à diferenciação pelo teste de hospedeiros diferenciadores (HARTMAN; SASSER, 1985). Assim, empregaram-se mudas de algodão (*Gossypium hirsutum* 'Deltapine 16'), fumo (*Nicotiana tabacum* 'NC 95'), pimentão (*Capsicum frutescens* 'Early Califórnia Wonder'), melancia (*Citrillus vulgaris* 'Charleston Gray'), amendoim (*Arachis hypogaea* 'Florunner'), tomate (*Lycopersicon esculentum* 'Santa Clara').

As sementes dessas espécies foram semeadas separadamente em vasos contendo mistura de solo e esterco (2:1) autoclavado. Após a emergência as mudas foram transplantadas, mantendo uma planta por vaso e inoculadas individualmente com suspensão de ovos e juvenis obtida de cada população das plantas acima referidas mantidas em cóleus (conforme mencionado no item 2.1) e de acordo com a metodologia de Coolen e D'Herde (1972) para extração do patógeno de raízes.

Após a inoculação, as plantas diferenciadoras foram mantidas em casa de vegetação ( $29\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) por 45 dias para avaliação do sistema radicular quanto à presença ou

ausência de galhas. Decorrido esse período as plantas foram removidas, o sistema radicular lavado e as raízes observadas em microscópio estereoscópico em laboratório.

Inoculações com suspensões de ovos e juvenis foram realizadas em espécies vegetais diferentes das plantas indicadoras para informações adicionais de comportamento das espécies em estudo.

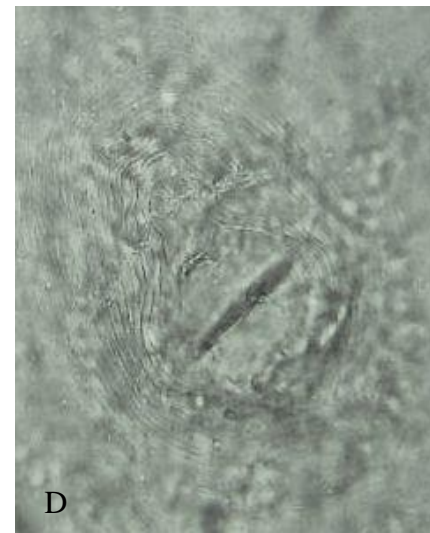
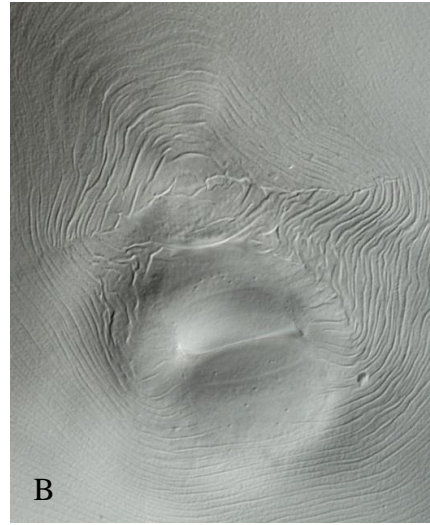
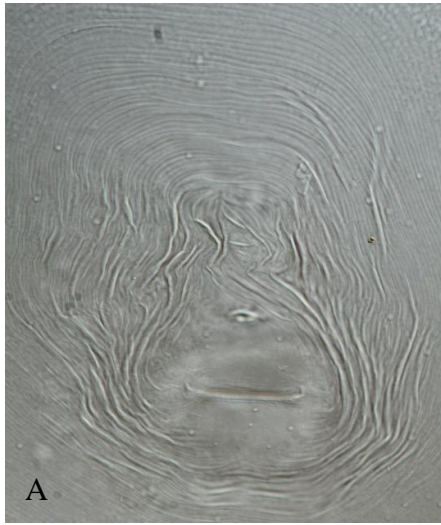
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise ao microscópio ótico da região perineal obtida de fêmeas retiradas das plantas infestadas com o nematoide das galhas e coletadas em campo, foi possível constatar as configurações perineais características das espécies de *Meloidogyne* mais comuns no país como também de padrões atípicos. Na identificação de *M. incognita* observou-se arco dorsal alto e quadrado e estrias bifurcadas no campo lateral; em *M. arenaria* verificou-se arco dorsal baixo, arredondado, com linhas formando ombros nos campos laterais; em *M. javanica*, observou-se arco dorsal baixo e arredondado apresentando os típicos sulcos laterais, característica esta que, em geral, facilita a sua identificação. A identificação de *M. enterolobii* foi dificultada pela sua semelhança com *M. incognita* e pela variação dos padrões perineais, conforme já relatado para essa espécie (CHARCHAR *et al.*, 2009; RAMMAH; HIRSCHMANN, 1988). Padrões com arco dorsal com linhas arredondadas e campos laterais semelhantes ao de *M. javanica*, com a qual foi inicialmente confundida, foram também observados. Esta população passou a ser denominada de *Meloidogyne* sp. Nestes dois últimos registros, contou-se com a colaboração de Jaime Maia dos Santos (UNESP-Jaboticabal) que identificou no primeiro material *M. enterolobii*, porém o pesquisador não reconheceu a espécie de padrões atípicos, considerando-a diferente das espécies já descritas (Figura 7 A-E). Segundo Carneiro *et al.* (1996) o uso de configurações perineais na identificação de espécies de *Meloidogyne* deve estar associado a outras técnicas de identificação, em razão da imprecisão do resultados. Os autores verificaram que a espécie *M. paranaensis* foi inicialmente identificada de forma incorreta como *M. incognita* biótipo IAPAR por cerca de 22 anos no Brasil por falta de técnicas de diagnose mais precisas. Só a partir de 1996, esse biótipo foi reavaliado e descrito como uma nova espécie com base principalmente no fenótipo de esterese (CARNEIRO *et al.*, 1996; CARNEIRO *et al.*, 2004).

Outro caso de variações nas características morfológicas em *Meloidogyne* pode ser exemplificada com a espécie *M. morocciensis*. Inicialmente esse nematoide foi identificado como *M. arenaria* a partir de padrões perineais, fenótipo de esterese e com estudos citológicos. Em teste diferencial de hospedeiras o patógeno comportou-se como *M. incognita* raça 2 infectando fumo, pimentão, melancia e tomate, mas não parasitando o algodão e o amendoim. Posteriormente, análises microscópicas revelaram características morfológicas relacionadas ao estilete dos adultos e comprimento do corpo do J2, as quais, diferiam de *M. arenaria*, *M. incognita* ou de qualquer outra espécie já descrita, o que levou à confirmação daquela espécie como *M. morocciensis* (RAMMAH; HIRSCHMANN, 1990).



Figura 7 - Configurações perineais: (A) *Meloidogyne incognita*; (B) *M. arenaria*; (C) *M. enterolobii*; (D) *M. javanica*; (E) *Meloidogyne* spp.



Fotos: (A, B, C, E) J.M.Santos; (D) M.C.L.Silva.

A análise eletroforética, mediante comparação da posição das bandas de enzimas de esterase no gel de poliacrilamida das populações investigadas com os padrões da *M. javanica*, possibilitou a constatação da presença das quatro espécies mais comuns no Brasil em diferentes percentuais: *M. incognita* identificada em 32,5 % das plantas (27/83 amostras) pertencentes a 18 espécies vegetais coletados em dez municípios de seis microrregiões (54%) (Tabela 2); *M. javanica* foi encontrada em 18,1 % das amostras (15/83) distribuídas em 10 espécies vegetais de nove municípios localizados em seis microrregiões (54%) (Tabela 2); *M. arenaria* foi identificada em 6% das amostras (5/83) em cinco espécies vegetais de quatro municípios pertencentes a três microrregiões (27%) e *M. hapla* em apenas uma espécie (1,2%) em apenas um município da Microrregião da Ibiapaba onde o clima apresenta temperaturas amenas (Tabela 2). Além destas espécies, também se constatou a presença de *M. enterolobii* em 20,4% das plantas (17/83 amostras) pertencentes a 14 espécies vegetais coletadas em seis municípios pertencentes a seis microrregiões (Tabela 2). Pode-se constatar, portanto, que *M. incognita* foi a espécie que apresentou maior número de hospedeiras, seguida de *M. enterolobii*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla*, ocorrência semelhante àquela relatada por Manso *et al.* (1994) para o Brasil com as quatro principais espécies. Neste levantamento também foi possível constatar a rara mistura (1,2 %) de espécies do nematoide em um mesmo material vegetal como foi o caso *M. incognita* e *M. arenaria* presentes em plantas de noni provenientes de Pacajus. As espécies *M. incognita* e *M. javanica* estavam presentes em 50% das microrregiões, confirmando os relatos anteriores de serem as espécies mais distribuídas no país.

Estes dados em parte diferem das informações referentes ao levantamento realizado no Ceará por Ponte *et al.* (1996), trabalhando com configuração perineal, os quais encontraram *M. incognita* em 30% das plantas, *M. javanica* em 27%, *M. arenaria* em 9,5 % e *M. hapla* em 16% dos casos, muito superior ao 1,2% relatados neste trabalho. Também diferiu nas quantidades de plantas com associações mistas do nematoide que para aqueles autores foi na ordem dos 18% contra 1,2 % detectados neste levantamento.

Moura publicou em 2005 a relação de fitonematóides de interesse agrônômico assinalados em solos agrícolas e raízes de plantas no Nordeste Brasileiro pelo Laboratório de Fitonematologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, durante 38 anos, no período de 1967 a 2005. As espécies do gênero *Meloidogyne* encontradas em 10 das culturas que investigou foram: *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. enterolobii*, *M. thamesi* e *Meloidogyne* spp. Enquanto num levantamento realizado por Lima *et al.* (2005) em áreas

Tabela 2 - Espécies de *Meloidogyne* em associação com diferentes plantas hospedeiras em coletas em municípios do Estado do Ceará. Fortaleza-CE 2014.

<b>Cultura</b>	<b>Espécie de <i>Meloidogyne</i></b>	<b>Local</b>
Acelga	<i>M. incognita</i>	Aquiraz <sup>1</sup>
Alface	<i>M. incognita</i>	Guaraciaba do Norte <sup>2</sup>
Alface	<i>M. incognita</i>	Tianguá <sup>2</sup>
Abóbora	Não detectado	Sobral <sup>4</sup>
Acerola	<i>M. enterolobii</i>	Acaraú <sup>5</sup>
Acerola	<i>M. incognita</i>	Fortaleza <sup>1</sup>
Acerola	Não detectado	Marco <sup>5</sup>
Acerola	<i>M. incognita</i>	Pacajus <sup>6</sup>
Acerola	<i>M. incognita</i>	Pentecoste <sup>7</sup>
Acerola	<i>M. incognita</i>	Tejuçuoca <sup>7</sup>
Banana	<i>M. javanica</i>	Acaraú <sup>5</sup>
Banana	<i>M. arenaria</i>	Guaiuba <sup>1</sup>
Banana	<i>M. javanica</i>	Limoeiro do Norte <sup>8</sup>
Banana	Não detectado	Pentecoste <sup>7</sup>
Batata-doce	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza <sup>1</sup>
Berinjela	<i>M. incognita</i>	Fortaleza <sup>1</sup>
Berinjela	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza <sup>1</sup>
Berinjela	Não detectado	Sobral <sup>4</sup>
Bredo, caruru	<i>M. incognita</i>	Tejuçuoca <sup>7</sup>
Beterraba	<i>M. incognita</i>	Fortaleza <sup>1</sup>
Beterraba	<i>M. incognita</i>	Guaraciaba do Norte <sup>2</sup>
Botão de ouro	<i>M. javanica</i>	Guaiuba <sup>1</sup>
Botão de ouro	<i>M. javanica</i>	Tabuleiro do Norte <sup>8</sup>
Cactáceas	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza <sup>1</sup>
Cactáceas	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza <sup>1</sup>
Cactáceas	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza <sup>1</sup>
Caja	<i>M. javanica</i>	Pacajus <sup>6</sup>
Cajarana	<i>M. incognita</i>	Pacajus <sup>6</sup>
Camará de cheiro	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza <sup>1</sup>
Canapun	<i>Meloidogyne</i> sp.	Guaiuba <sup>1</sup>

Cenoura	<i>M. incognita</i>	Fortaleza <sup>1</sup>
Cenoura	<i>M. incognita</i>	Guaraciaba do Norte <sup>2</sup>
Celosia	<i>M. incognita</i>	Pacoti <sup>9</sup>
Corda de viola	<i>M. javanica</i>	Acaraú <sup>5</sup>
Feijão	Não detectado	Limoeiro do Norte <sup>8</sup>
Falsa serralha	<i>M. javanica</i>	Acaraú <sup>5</sup>
Falsa serralha	<i>M. enterolobii</i>	Acaraú <sup>5</sup>
Hypersicum	<i>M. enterolobii</i>	São Benedito <sup>2</sup>
Ingá	<i>M. enterolobii</i>	Pacajus <sup>6</sup>
Ipê	<i>M. incognita</i>	Pacajus <sup>6</sup>
Maracujá	Não detectado	Guaiuba 1
Maracujá	Não detectado	Marco <sup>5</sup>
Malva branca	<i>M. javanica</i>	Acaraú <sup>5</sup>
Mamão	Não detectado	Baturité <sup>9</sup>
Mamão	<i>Meloidogyne</i> sp.	Curupati <sup>10</sup>
Mamão	<i>Meloidogyne</i> sp.	Guaiuba <sup>1</sup>
Mamão	<i>Meloidogyne</i> sp.	Jaguaribara <sup>10</sup>
Mamão	<i>M. javanica</i>	Maranguape <sup>1</sup>
Mamão	Não detectado	Marco <sup>5</sup>
Mamão	<i>M. javanica</i>	Pacatuba <sup>1</sup>
Mamão	<i>M. enterolobii</i>	Paraipaba <sup>11</sup>
Mamão	<i>M. javanica</i>	Tejuçuoca <sup>7</sup>
Manjeriçã	<i>M. enterolobii</i>	Pacajus <sup>6</sup>
Maria-pretinha	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza <sup>1</sup>
Maria-sem-vergonha	<i>M. arenaria</i>	Pentecoste <sup>7</sup>
Milho	Não detectado	Limoeiro do Norte <sup>8</sup>
Melão	<i>M. incognita</i>	Pacajus <sup>6</sup>
Jurubeba	<i>M. enterolobii</i>	Acaraú <sup>5</sup>
Jurubeba	<i>M. enterolobii</i>	Pentecoste <sup>7</sup>
Noni	<i>Meloidogyne</i> sp.	Fortaleza <sup>1</sup>
Noni	<i>M. incognita</i>	Fortaleza <sup>1</sup>
Noni	<i>M. javanica</i>	Pacatuba <sup>1</sup>
Noni	<i>M. incognita</i> e <i>M. arenaria</i>	Pacajus <sup>6</sup>

Noni	<i>M. javanica</i>	Tejuçuoca <sup>7</sup>
Palma	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza <sup>1</sup>
Papaconha	<i>M. javanica</i>	Acaraú <sup>5</sup>
Pimentão	<i>M. incognita</i>	Pentecoste <sup>7</sup>
Pimenta tabasco	<i>M. enterolobii</i>	Paraipaba <sup>11</sup>
Pimenta de cheiro	<i>M. incognita</i>	São Benedito <sup>2</sup>
Pingo de ouro	<i>M. arenaria</i>	Fortaleza <sup>1</sup>
Quiabo	<i>M. incognita</i>	Guaraciaba do Norte <sup>2</sup>
Quiabo	<i>M. javanica</i>	Aracoiaba <sup>9</sup>
Roseira	<i>M. hapla</i>	São Benedito <sup>2</sup>
Repolho	<i>Meloidogyne</i> sp.	Guaraciaba do Norte <sup>2</sup>
Sapoti	Não detectado	Marco <sup>5</sup>
Seriguela	Não detectado	Pentecoste <sup>7</sup>
Soja	Não detectado	Limoeiro do Norte <sup>8</sup>
Tiririca	<i>M. incognita</i>	Tejuçuoca <sup>7</sup>
Tomate	<i>M. incognita</i>	Aquiraz <sup>1</sup>
Tomate	<i>M. incognita</i>	Fortaleza <sup>1</sup>
Tomate	<i>M. arenaria</i>	Pentecoste <sup>7</sup>
Tomate	<i>M. incognita</i>	Pindoretama <sup>3</sup>
Umbu-cajá	<i>M. incognita</i>	Pacajus <sup>6</sup>

---

Microrregiões: 1- Fortaleza; 2- Ibiapaba; 3- Cascavel; 4- Sobral; 5- Litoral de Camocim e Acaraú; 6- Pacajus; 7- Médio Curu; 8- Baixo Jaguaribe; 9- Baturité; 10 – Médio Jaguaribe; 11- Baixo Curu.

da Mata Atlântica em vegetação do tipo floresta foi possível detectar *M. javanica* em doze espécies nativas, *M. exigua* em outras seis, *M. incognita* em duas espécies vegetais e *M. enterolobii* em apenas uma, evidenciando a diversidade de nematóides das galhas mesmo em áreas não cultivadas.

Os fenótipos de esterase para as cinco diferentes espécies encontrados neste trabalho encontram-se ilustrados nos géis nas figuras 8 (A-F).

Os resultados das análises eletroforéticas observados em géis nos quais se aplicaram amostras de fêmeas que após trituradas em tampão foram submetidas ao congelamento por período de uma semana a dois meses não divergiram dos demais testes realizados com amostras recém-trituradas e aplicadas no mesmo dia. Esta informação é útil

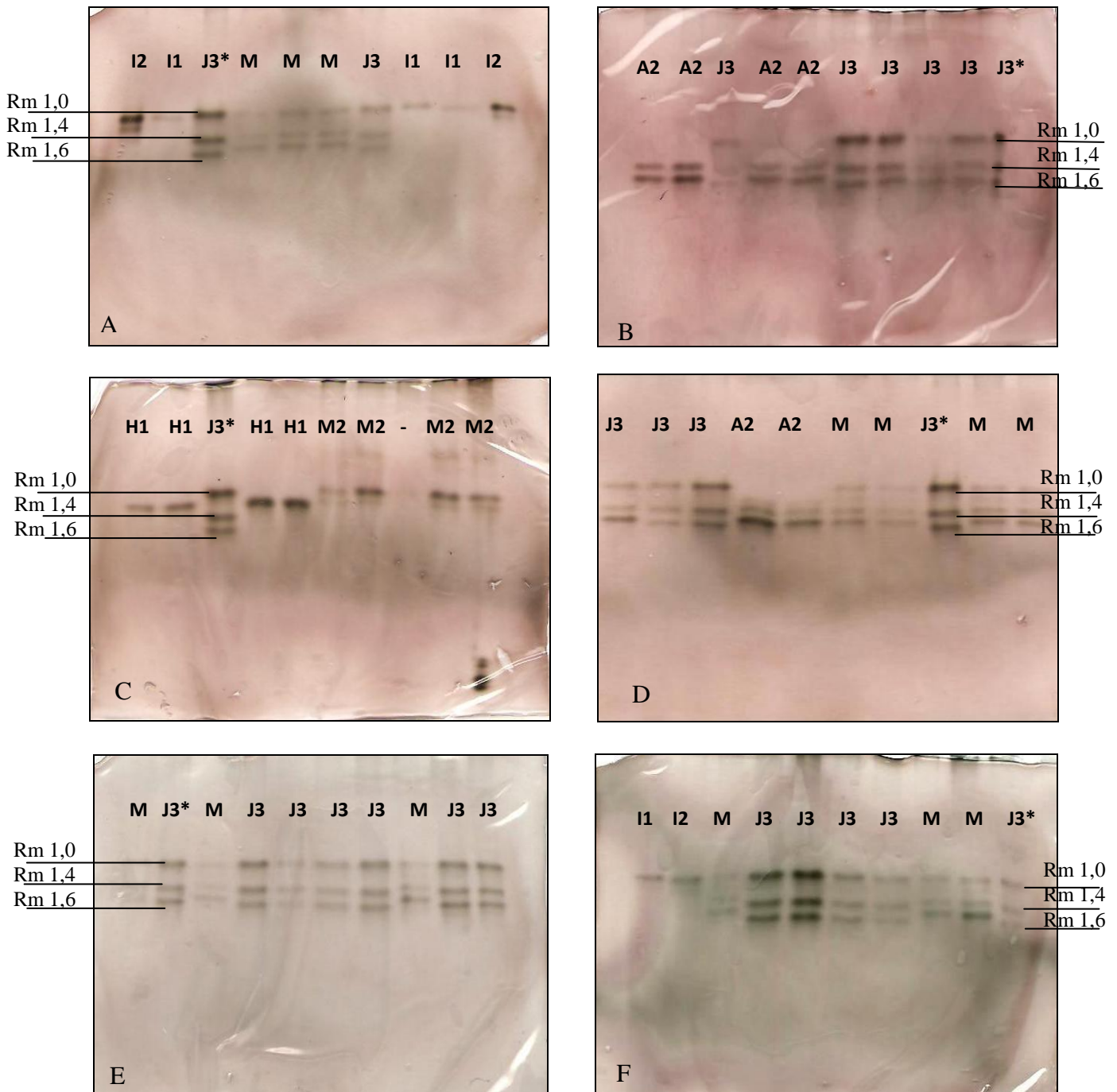
nesse tipo de estudo, uma vez que em determinadas circunstâncias um levantamento de campo pode requerer o armazenamento de amostras devido o acúmulo de coletas, e os exemplares de fêmeas das populações de nematoide congelados não seriam perdidos ou não teriam modificadas as suas enzimas.

Nas investigações sobre a ocorrência simultânea de espécies de *Meloidogyne* em uma mesma raiz ou planta empregando-se várias fêmeas trituradas em um único microtubo e tendo o extrato aplicado em um único poço do gel, indicaram que as populações dos materiais estudados não tinham infestação mista, uma vez que os fenótipos de esterase não apresentavam alterações sugestivas de misturas. O único caso identificado de duas espécies juntas na mesma planta foi observado em gel com fêmeas retiradas separadamente de vários locais de uma mesma raiz.

Para as espécies de *M. incognita*, a maioria das amostras (19/27) apresentou o fenótipo I1 com a visualização de uma única banda, enquanto que em outras (8/27) amostras observaram-se padrões com duas bandas bem próximas, o que é característico do fenótipo I2 (Figura 8 A e F). Este resultado está de acordo com a observação feita por Esbenshade e Triantaphyllou (1985) os quais relatam que o fenótipo de esterase I1 é o mais comum em *M. incognita*. De acordo com Carneiro *et al.* (1996), a visualização da segunda banda na espécie *M. incognita* (I2) não é fácil, em razão de ser naturalmente mais tênue e aparentemente depender do estágio de desenvolvimento da fêmea. A segunda banda é, contudo, vista mais claramente quando o extrato proteico de várias fêmeas é colocado em um mesmo poço. No entanto, neste trabalho a identificação das espécies foi feita com fêmeas individualizadas e, quando presente, a segunda banda foi facilmente visualizada no gel. Resultado semelhante da presença dos fenótipos I1 e I2 de *M. incognita* foram observados por Castro *et al.* (2003) em análises de géis com fêmeas obtidas de raízes de soja no Rio Grande do sul, Paraná, Goiás e Mato Grosso e por Somavilla *et al.* (2011) para quivi (*Actinidia deliciosa* (Chevalier) Liang e Ferguson) no Rio Grande do Sul. Neste levantamento *M. incognita* esteve comumente associada com fruteiras, hortaliças e medicinais (Tabela 2).

Para a espécie *M. javanica* todas as fêmeas retiradas das amostras por elas infestadas apresentaram o fenótipo de esterase com três bandas (J3), assim como o padrão de *M. javanica* empregado em todos os ensaios (Figura 8 A-F). O padrão de duas bandas (J2) no já foi encontrado em associação com videiras no Rio Grande do Sul (SOMAVILLA, 2011). Em levantamentos realizados por Severino *et al.* (2008) em lavouras de cana-de-açúcar no Paraná, *M. javanica* foi a mais frequente (45,95 %) e o padrão de esterase encontrado para todas as amostras dessa espécie foi do fenótipo de esterase J3. *M. incognita* foi a segunda

Figura 8- Fenótipos de esterase de populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de raízes de plantas coletadas em municípios do Ceará. Gel A) I2 = em ipê, I1= em cenoura; M= em mamão; J3= em banana; Gel B) A2= em pingo de ouro, J3= em malva branca e falsa serralha; Gel C) H1= em rosa, I1= em pimentão, M2= em acerola e hypericum; Gel D) J3= em quiabo, cajá e corda de viola, A2= em noni, M= em canapum e repolho; Gel E) M= em mamão, J3= em banana e botão de ouro; Gel F) I1= em beterraba, I2= em cajarana, M= em noni, J3= em mamão e banana.



J3\* fenótipo de *M. javanica* padrão; I1 = fenótipo de *M. incognita* com uma banda; I2= fenótipo de *M. incognita* com duas bandas; J3= fenótipo de *M. javanica* com três bandas; A2= fenótipo de *M. arenaria* com duas bandas; H1= fenótipo de *M. hapla*; M2 = fenótipo de *M. enterolobii* com duas bandas principais; M= fenótipo de *Meloidogyne* sp. Rm= mobilidade relativa.

Fotos: M.C.L. Silva

mais comum (21,62 %) e apenas o fenótipo esterase II foi observado e finalmente *M. paranaensis* foi constatada em apenas uma das amostras (1,35 %) com fenótipo P1. Esta última espécie não foi detectada em plantas no Ceará.

Neste trabalho a espécie *M. javanica* foi detectada parasitando a cultura do mamão, banana, cajá, noni e quiabo. Constatou-se também a ocorrência dessa espécie associada a vegetação espontânea como botão de ouro (*Siegesbeckia orientalis* L.), falsa-serralha (*Emilia fosbergii* Nicolson), corda de viola (*Ipomoea purpurea* (L.) Roth), papaconha (*Hybanthus ipecacuanha* (L.) Oken) e malva branca (*Sida cordifolia* L.), presentes em áreas de vegetação nativa.

Em relação a espécie *M. arenaria* foi constatado apenas o fenótipo apresentando duas bandas (A2) (Figura 7 B), apesar de a espécie possuir fenótipos de uma banda (A1) e de três bandas (A3) (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU (1990). Castro *et al.* (2003) constataram tanto o fenótipo A2 como o A3 em amostras de soja a partir de levantamentos que conduziu no Rio Grande do Sul. Resultados semelhantes foram obtidos por Somavilla *et al.* (2011) em levantamentos de *Meloidogyne* spp. provenientes de amostras de raízes de quivi coletadas em pomares e viveiros no Rio Grande do Sul, nos quais os autores encontram somente o fenótipo A2 de *M. arenaria*. *M. arenaria* no Ceará foi relatada em dália (*Dahlia variabilis* Wild.) e cróton variegado (*Codiaeum variegatum* L.) por Freire e Mosca (2009) e em 14 espécies, maioria plantas daninhas e ornamentais citadas por Ponte *et al.* (1996).

A espécie *M. hapla* foi constatada apenas em amostras de roseiras apresentando o fenótipo de esterase típico de uma única banda, denominado H1 (Figura 7 C). Amostras de raízes de roseiras foram coletadas no município serrano de São Benedito, região considerada de clima mais ameno quando comparada com outras regiões do estado do Ceará. Essa espécie de nematoide foi anteriormente relatada no Ceará parasitando plantas ornamentais de zínia (*Zínia elegans* Jacq.), girassol (*Helianthus annuus* L.) e dois amores (*Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit.) (FREIRE; MOSCA, 2009) além dos relatos de Ponte *et al.* (1996) que teriam identificado a espécie em 23 plantas.

Além de *M. hapla*, Freire e Mosca (2009) a partir de levantamentos de doenças em 28 plantas ornamentais conduzido por seis anos, de 2002 a 2008, encontraram as outras espécies mais comuns de *Meloidogyne*, *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*. sendo esta primeira espécie a mais frequente nas plantas coletadas (23/28). O parasitismo de *M. incognita* em antúrio (*Anthurium andraeanum* Linden), bastão-do-imperador (*Etilingera elatior* R.M.Smith), crisântemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.), cróton variegado, helicônia (*Heliconia* spp.), perpétua (*Gomphrena globosa* L.), pingo-de-ouro e sanseviéria



(*Sansevieria cylindrica* Bojer) foi por eles relatados pela primeira vez no Ceará (FREIRE; MOSCA, 2009). Infestação mista foi constatada pelos autores em cinco das espécies coletadas.

A ocorrência de meloidoginose está quase sempre associada a regiões quentes, mas algumas espécies são típicas de clima frio. A *M. hapla*, das quatro espécies, é considerada a menos frequente no país sendo associada comumente a regiões de clima frio, onde ocorre variação de temperatura de 15 a 25°C. As espécies *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* são mais frequentes em regiões de clima quente predominando nas regiões tropicais com o ótimo em torno de 25 a 30°C (LORDELLO, 1984; MOURA, 1996). Essas informações confirmam a predominância das três referidas espécies nos materiais vegetais das áreas mais quentes do Estado.

Durante o levantamento realizado neste trabalho, observou-se que a espécie *M. enterolobii* estava presente em seis dos 23 municípios ocorrendo em 21% das plantas infestadas (17/83 amostras) distribuídas em 14 espécies vegetais. Os municípios desse relato pertencem a cinco microrregiões (45%) dentre as visitadas. Este nematoide foi identificado em raízes de acerola, batata doce, berinjela, ingá, jurubeba, *Hypericum* sp, mamão, manjeriço, pimenta tabasco, cactos, palma e nas plantas daninhas camará-de-cheiro, maria-pretinha e falsa-serralha encontradas espontaneamente nos pomares em que as amostras de raízes infestadas foram coletadas (Tabela 2). De acordo com Almeida *et al.* (2011), *M. enterolobii* tem sido também assinalado parasitando várias outras culturas, como acerola, alface, fumo, pimentão, pepino, quiabo, soja, tomate e goiaba em praticamente todas as regiões produtoras do país.

A aceroleira foi encontrada no Ceará em cinco municípios de quatro microrregiões com infestações isoladas de *M. enterolobii* e *M. incognita*. Plantas debilitadas pelo patógeno foram observadas em pomares em Pacajus. Castro *et al.* (2009) relataram aceroleiras afetadas por *M. enterolobii*, *M. arenaria*, *M. incognita* e *M. javanica*, nesta sequência decrescente de predominância, tendo também registrado infecção mista de *M. enterolobii* e *M. arenaria* em uma das plantas examinadas.

Em seis amostras provenientes de mamão (3) coletadas nos municípios de Jaguaribara e Guaiuba, repolho (1) coletada em Guaraciaba do Norte, canapim (1) coletada em Guaiuba e noni (1) coletada em Fortaleza, foram detectados fenótipos de esterase distintos daqueles das espécies de *Meloidogyne* que já ocorrem no Brasil. Esses quatro municípios estão situados em três microrregiões (Médio Jaguaribe, Fortaleza e Ibiapaba) bem distantes entre si. A região perineal das fêmeas retiradas desses materiais vegetais, apresentaram

padrões atípicos e foram denominadas de *Meloidogyne* sp. Referido fenótipo apresenta quatro bandas sendo três mais fortes e uma banda bem tênue, esta sempre abaixo da primeira banda. Este fenótipo se aproxima daquele observado em *M. javanica*, por ter a primeira banda na mesma altura e manter uma separação visível das duas últimas bandas. Difere, contudo, pela existência de uma quarta banda (tênue) e pela diferença na altura da última banda no gel (Figura 8A e E). A distinção entre as duas espécies somente foi possível com as repetidas análises eletroforéticas empregando exemplares retirados das mencionados seis espécies vegetais. A identificação em nível de espécie da população de padrões perineais e fenótipos de esterase atípicos ainda não foi concluída, podendo os estudos que prosseguem revelarem tratar-se de uma espécie nova para o país. Auxílio técnico foi solicitado à Regina M. D. Gomes Carneiro (Embrapa- Cenargen).

Em treze dos materiais vegetais coletados em amostras de raízes de abóbora, acerola, banana, berinjela, feijão de corda, maracujá, mamão, milho, sapoti, seriguela e soja, provenientes dos municípios de Baturité, Guaiuba, Limoeiro do Norte, Marco, Pentecoste e Sobral não foi possível identificar a espécie em razão de infestação ainda sem presença de fêmeas maduras leitosas e, ou ausência de galhas.

Nenhum outro fitonematoide foi encontrado em associação com o sistema radicular das plantas apresentando galhas coletadas neste trabalho.

Em comparação com as listas publicadas por Ponte (1977), Ponte *et al.* (1996); Freire e Souza (2008); Freire e Mosca (2009) nas quais constam as citações de *Meloidogyne* spp. em culturas e plantas daninhas no Ceará, verificou-se que as seguintes associações encontradas neste trabalho não foram ainda mencionadas podendo ser os primeiros relatos no estado: acelga, beterraba, pimenta de cheiro e umbu-cajá infestadas por *M. incognita*; de botão de ouro, cajá, papaconha e quiabo com *M. javanica*; de maria-sem-vergonha e pingo de ouro com *M. arenaria*; a roseira com *M. hapla*; acerola, batata doce, berinjela, cactus, falsa serralha, ingá, mamão, manjeriço, maria-pretinha, jurubeba, palma, pimenta tabasco e *Hypericum* sp com *M. enterolobii*. O parasitismo de raízes de acerola com *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* já fora relatado no Ceará por Freire e Cardoso (1996). As plantas de noni coletadas neste trabalho de três localidades diferentes estavam infestadas com *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*. Relato de noni com *M. incognita* e *M. javanica* já foram feitos no estado por Freire e Souza (2008), contudo os autores não registraram infestação do noni com *M. arenaria*.

Adicionalmente, relata-se a ocorrência de uma provável nova espécie em mamão, repolho, noni e canapum, em três microrregiões. Esta última planta silvestre já fora relatada como hospedeira natural de *M. incognita* e *M. javanica* (Ponte, 1977).

As demais associações de hospedeiras e espécies constantes na Tabela 2, já foram relatadas no Ceará. Ressaltamos ainda que somente as infestações em batata doce, berinjela, cactus, falsa serralha, hypericum, ingá, manjeriço, jurubeba, palma, pimenta tabasco com *M. enterolobii* ainda não foram citadas no país (PONTE, 1977; MANSO *et al.*, 1994; TENENTE *et al.*, 2002; SOUZA *et al.*, 2006; CASTRO *et al.*, 2009).

Nos ensaios desenvolvidos neste trabalho durante as extrações do nematoide das raízes para obtenção de inóculo, tanto de plantas coletadas em campo como de casa de vegetação, foi constatada, além de ovos, juvenis e fêmeas, a frequente presença de machos, fato oposto ao comumente relatado na literatura. Em raízes de plantas jovens de tomateiro e de coleus, boas hospedeiras e multiplicadoras das espécies de *M. incognita*, *M. enterolobii*, *M. arenaria* e *M. javanica* foram encontrados numerosos machos. Em raízes com peso individual de 22,3 g a 44,9 g, havia de 25 a 40 machos/grama de raiz infestada e por vezes foram contados 900 indivíduos machos/ planta. Nessas extrações foram obtidos de 2.901 a 4.470 ovos/grama de raiz, o que correspondeu a um fator de reprodução (FR) de 19,67, indicando que as condições eram favoráveis à reprodução do nematoide, uma vez que o intervalo de temperatura registrado na maior parte dos meses em casa de vegetação (25-30°C) era favorável ao desenvolvimento do patógeno (SILVA; SANTOS, 2011).

De um modo geral, a presença de macho de *Meloidogyne* spp. em material vegetal é pouco frequente e quando ocorre está associado à condição de planta má hospedeira ou a de raízes muito comprometidas, o que não ocorria nos ensaios. Desta forma, podemos inferir que, apesar da reprodução ser partenogenética e de que machos não contribuem na dispersão do parasita, sua ocorrência em plantas no campo ou em casa de vegetação não deve ser considerada rara ou associada a más hospedeiras, a plantas senescentes ou a ambiente adverso, como comumente relatado na literatura.

Após a identificação do nematoide em nível de espécie, os testes conduzidos com plantas diferenciadoras em 10 das 23 populações oriundas das culturas do melão, alface, tomate, cenoura, quiabo, cajarana, umbu, acerola, ipê e celósia, conforme a infestação ou não em plantas de fumo e, ou algodão (Tabela 3) revelaram duas raças fisiológicas de *M. incognita*, uma raça de *M. javanica* e a raça de *M. arenaria* em pingo de ouro (raça 1). Pelos resultados observou-se que a raça 3 de *M. incognita* foi a mais frequente no material investigado. Estes resultados são semelhantes aos obtidos em áreas algodoeiras do Estado de

Tabela 3 - Comportamento de plantas indicadores e definição das raças fisiológicas de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *Meloidogyne* spp. encontradas associadas a plantas coletadas nos municípios do Ceará. Fortaleza-CE 2014.

População	Plantas Hospedeiras Diferenciadoras *					Raça
	Algodão	Fumo	Pimentão	Melancia	Amendoim	
<b><i>M. incognita</i></b>						
Cajarana	-	+				Raça 2
Ipê	-	+				Raça 2
Quiabo	-	+				Raça 2
Tomate 'Santa Clara'	+	-				Raça 3
Celosia	+	-				Raça 3
Acerola	+	-				Raça 3
Melão	+	-				Raça 3
Umbu	+	-				Raça 3
Alface	+	-				Raça 3
Cenoura	+	-				Raça 3
<b><i>M. javanica</i></b>						
Banana			+		-	Raça 2
Cajá			+		-	Raça 2
<b><i>M. arenaria</i></b>						
Pingo de ouro			+		-	Raça 1
<b><i>Meloidogyne</i> sp.</b>						
Mamão	-	+	+	+	-	Indefinida

\* = (-) indica hospedeiro resistente, (+) indica hospedeiro suscetível, segundo escala proposta por Hartman e Sasser (1985).

São Paulo, nas quais constatou-se que a raça 3 de *M. incognita* era a mais disseminada ocorrendo em 56% das 52 amostras coletadas no Estado (LORDELLO, 1976).

Ruano *et al.* (1985) observaram igual tendência, verificando a predominância da raça 3 de *M. incognita* em oito áreas algodoceiras dos Estados do Paraná e Goiás. Moura e Moura (1989), por outro lado, constataram intenso ataque de *M. incognita* raça 2 em raízes de

goiabeiras no Estado de Pernambuco com formação de volumosas e típicas galhas, além de decomposição do córtex, ocasionando a morte rápida da planta.

Segundo Castro *et al.* (2003) a identificação das raças em *M. incognita* encontrada infestando soja nas principais regiões produtoras, foi de grande importância não só no programa de melhoramento, visando o desenvolvimento de cultivares resistentes para soja, mas também na escolha de espécies ou cultivares a serem usadas em esquema de rotação de culturas.

As plantas indicadoras inoculadas com uma população de *Meloidogyne* sp. oriunda de mamão do município de Jaguaribara, microrregião do Médio Jaguaribe, apresentou comportamento semelhante à raça 2 de *M. javanica*. Inoculações em alface, berinjela, tomate ‘Nemador’, tomate ‘Santa Clara’, tomate ‘IPA-6’ e noni realizadas com a mesma população de *Meloidogyne* sp permitiram verificar que, exceto o noni, as demais plantas foram suscetíveis apresentando numerosas galhas nas raízes. Esta informação será acrescida às outras na investigação para identificação daquela espécie.

Estudos para identificação de raças fisiológicas de espécies de *Meloidogyne* anteriormente identificadas em plantas naturalmente infestadas no Estado do Ceará ainda não haviam sido conduzidos.

Destaca-se a contribuição do presente levantamento para atualização das informações relativas à ocorrência de *Meloidogyne* spp em plantas nas microrregiões do Estado realizado com técnicas morfológicas, bioquímicas e fisiológicas que possibilitaram a obtenção mais segura da identificação das espécies estudadas do nematoide das galhas presentes nas áreas agrícolas.

O conhecimento de espécies vegetais hospedeiras de *Meloidogyne* é uma etapa fundamental para que medidas de controle sejam adotadas, principalmente no caso da espécie *M. enterolobii* e *M. incognita* que apresentaram uma maior capacidade em parasitar plantas de famílias botânicas diferentes, o que pode inviabilizar a rotação de cultura como uma estratégia de manejo.

#### 4 CONCLUSÕES

A técnica de eletroforese de isoenzimas possibilitou a identificação de espécies de *Meloidogyne*.

As espécies *M. incognita*, *M. enterolobii*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* ocorrem no Estado do Ceará.

*M. incognita* foi a espécie que apresentou maior número de hospedeiras, seguida de *M. enterolobii*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla*.

*M. incognita*, *M. javanica*, *M. enterolobii* e *M. arenaria* e estavam presentes em 54%, 54%, 45% e 27% das microrregiões visitadas, respectivamente.

As raças fisiológicas de *M. incognita* encontradas nas plantas investigadas foram as raças 2 e 3, na *M. arenaria* foi encontrada a raça 1 e em *M. javanica* a raça 2.

Um novo fenótipo de esterase de *Meloidogyne* foi encontrado em plantas nas Microrregiões de Fortaleza, de Ibiapaba e do Médio Jaguaribe.

Vinte e cinco novas associações envolvendo *M. incognita*, *M. enterolobii*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* foram encontradas no Estado Ceará.

## REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A.C.; BRUNE, W. Eletroforese em gel de ploacrilamida. In: ALFENAS, A.C. (Ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa, MG: Editora UFV, p. 151-182. 2006.
- ALMEIDA, E.J.; ALVES, G.C.S.; SANTOS, J.M.; MARTINS, A.B.G. Assinalamentos de *Meloidogyne enterolobii* em goiabeira e em plantas invasoras no estado de São Paulo, Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 35, n. (1-2), p. 50-52. 2011.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides de galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n.1, p. 35-44. 2001.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A.; CARNEIRO, R.G. Enzyme phenotypes of brazilian isolates of *Meloidogyne* spp. **Fundamental and Applied Nematology**, v.19. p. 555-560. 1996.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A.; GOMES, A.C.M.M. Primeiro registro de *Meloidogyne hispânica* Hirschmann, 1986 em abóbora no Estado da Bahia, Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 28, n. 2, p. 215-218. 2004.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; CARNEIRO, R.G.; NEVES, D.L.; ALMEIDA, M.R.A. Nova raça de *Meloidogyne javanica* detectada em *Arachis pintoi* no Estado do Paraná. **Nematologia Brasileira**, v 27, n.2, p. 219-221. 2003.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; SANTOS, M. F. A.; ALMEIDA, M. R. A., MOTA, F. C.; GOMES, A. C. M. M.; TIGANO, M. S. Diversity of *Meloidogyne arenaria* using morphological, cytological and molecular approaches. **Nematology**, v.10, n.6, p. 819-834. 2008.
- CASTRO, J.M.C.; LIMA, R.D.; CARNEIRO, R.M.D.G. Variabilidade isoenzimática de populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de regiões brasileiras produtoras de soja. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n.1, p.1-12. 2003.
- CASTRO, J. M. C.; SANTANA, M. L. M. P.; BARBOSA, N. M. L. **Nematóides-das-galhas (*Meloidogyne* spp.) em aceroleira e recomendações de manejo**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2009. p.2 (Instruções Técnicas, 87).
- CHARCHAR, J. M.; FONSECA, M. E. N; BOITEUX, L.S.; LIMA NETO, A.F. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado do Tocantins. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, n.2, p.182-186. 2009.
- COOLEN, W.A.; D'HERDE. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent, State Agricultural Research Center. 77p. 1972.
- DICKSON, D. W.; HUISINGH D.; SASSER, J. N. Dehydrogenases, acid and alkaline phosphatases and esterases for chemotaxonomy of selected *Meloidogyne*, *Ditylenchus*, *Heterodera*, and *Aphelenchus* spp. **Journal of Nematology**. v.1, p.1-16. 1971.

ESBENSHADE, P.R.; TRIANTAPHYLLOU, A.C. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**. v. 17, n.1, p.6-20. 1985.

ESBENSHADE, P.R.; TRIANTAPHYLLOU, A.C. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, v.22, n.1, p. 10-15. 1990.

FERRAZ, L.C.C.B.; MONTEIRO, A.R. Nematoides. In: BERGAMIN FILHO, A. AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M. (Org.). **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. Volume 1. 4 ed. São Paulo, Agronômica Ceres, v.1, p. 277-305. 2011.

FREIRE, F.C.O.; CARDOSO, J.E. **Ocorrência de nematoides das galhas em aceroleira**. Embrapa Açoindustria Tropical. n.10, p.1-3. 1996. (Comunicado Técnico).

FREIRE, F.C.O.; MOSCA, J.L. Patógenos associados a doenças de plantas ornamentais no estado do Ceará. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 15, n 1, p.83-89, 2009.

FREIRE, F.C.O.; SOUSA, J.A. **Meloidogyne incognita, Meloidogyne javanica e Lasiodiplodia theobromae associados à morte de plantas de noni (*Morinda citrifolia*) no Estado do Ceará**. p.4. 2008. Disponível em: < <http://www.docstoc.com/docs/38351746/Meloidogyne-incognita--Meloidogyne-javanica-E-Lasiodiplodia>>. Acesso em: 08 jan. 2014.

FREITAS, L.G.; OLIVEIRA, R.D.L.O; FERRAZ, S. Nematoides como patógenos de plantas. In: ZAMBOLIM, L.; JESUS JUNIOR, W.C.; PEREIRA, O.L. **O essencial da fitopatologia: agentes causais**. Volume 2. Viçosa, MG: UFV, DFP, 417p. 2012.

HARTMAN, K.M; SASSER, J.N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal patterns morphology. In: BARKER, K.R.; CARTER, C.C.; SASSER, J.N. (Ed.). **An advanced treatise on Meloidogyne**. V.2. Methodology. North Carolina State University Graphics, Raleigh, p.69-77. 1985.

HUNT, D.J.; HANDOO, Z.A. Taxonomy, identification and principal species. In: PERRY, R.N.; MOENS, M.; STARR, J.R. (Ed.). **Root-knot Nematodes**. Cambridge, MA, USA, CABI International, p.55-88. 2009.

LIMA, I.M.; SOUZA, R.M.; SILVA, C.P.; CARNEIRO, R.M.D.G. *Meloidogyne* spp. from preserved areas of Atlantic Forest in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Nematologia Brasileira**, v.29, n.1, p. 31-38. 2005.

LORDELLO, L.G.E. Perdas causadas por nematoides. **Revista Agricultura**. v. 51. n. (3 e 4). p. 222. 1976.

LORDELLO, L.G.E. **Nematóides das plantas cultivadas**. 8.ed. São Paulo: Nobel, 314p. 1984.

MANSO, E.C.; TENENTE, R.C.V.; FERRAZ, L.C.B.; OLIVEIRA, R.S.; MESQUITA, R. **Catálogo de nematóides fitoparasitas encontrados, associados a diferentes tipos de plantas no Brasil**. Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 488 p. 1994.



- MOURA, R.M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. In: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.C.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.4, p.209-245. 1996.
- MOURA, R.M. Nematoides de interesse agrícola assinalados pela UFRPE no Nordeste do Brasil (1967-2005). **Nematologia Brasileira**, v.29, n.2, p.289-292. 2005.
- MOURA, R.M.; MOURA, A.M. Meloidoginose da goiabeira: doença de alta severidade no Estado de Pernambuco, Brasil. **Nematologia Brasileira**, v.13, p. 13-19. 1989.
- NEVES, W. S.; DIAS, M. S. C.; BARBOSA, J. G. Flutuação populacional de nematoides em bananais de Minas Gerais e Bahia (anos 2003 a 2008). **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.33, n.4, p. 281-285. 2009.
- PONTE, J.J. Nematóides das galhas: espécies ocorrentes no Brasil e seus hospedeiros. Mossoró: ESAM: **Coleção Mossoroense**, vol. LIV, Mossoró (RN). 100 p. 1977.
- PONTE, J.J.; HOLANDA, Y.C.A.; ARAGÃO, M.L. Adendo ao Catálogo de Plantas Hospedeiras de *Meloidogyne* no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v.20, n.1, p.73-81. 1996.
- RAMMAH, A.; HIRSCHMANN, H. *Meloidogyne mayaguensis* n. sp. (Meloidogynidae), a Root-knot nematode from Puerto Rico. **Journal of Nematology**, v. 20, n.1, p.58-69. 1988.
- RAMMAH, A.; HIRSCHMANN, H. *Meloidogyne morocciensis* n. sp. (Meloidogyninae), a Root-knot nematode from Morocco. **Journal of Nematology**, v. 22, n.3, p.279-291. 1990.
- RUANO, O.; CHAVES, G. M.; FERRAZ, S.; ZAMBOLIM, L. Distribuição de raças de *Meloidogyne incognita* em áreas algodoeiras nos estados do Paraná e Goiás. **Fitopatologia Brasileira**, v. 10, n. 3, p. 667– 670. 1985.
- SEVERINO, J.J.; DIAS-ARIEIRA, C.R.; TESSMANN, D.J.; SOUTO, E.R. Identificação de populações de *Meloidogyne* spp. parasitas da cana-de-açúcar na região Noroeste do Paraná pelo fenótipo da isoenzima esterase. **Nematologia Brasileira**, v.33, n.3, p. 206-211. 2008.
- SILVA, M.C.L; SANTOS, C.D.G. *Solenestemon scutellarioides*, espécie vegetal de rápida propagação para a multiplicação de nematóides das galhas. **Tropical Plant Pathology**. v.37, p. (Suplemento). 2012.
- SOMAVILLA, L. Levantamento, caracterização do nematoide das galhas em videira nos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina e estudo da resistência de porta-enxertos a *Meloidogyne* spp. 2011. 83 p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Pelotas. 2011.
- SOMAVILLA, L.; GOMES, C.B.; CARBONARI, J.J.; CARNEIRO, R.M.D.G. Levantamento e caracterização de espécies do nematóides das galhas em quivi no Rio Grande do Sul, Brasil. **Tropical Plant Pathology**, vol. 36, n.2, p. 89-94. 2011.
- SOUZA, M.R.; NOGUEIRA, M.S.; LIMA, I.M.; MELARATO, M.; DOLINSK, C.M. Manejo do nematóide das galhas da goiabeira em São João da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros. **Nematologia Brasileira**, v.30, n.2 p.165-169. 2006.

TENENTE, R.C.V.; GONZAGA, V.; MELO, L.A.M.P.; MUNHOZ TENENTE, S.M.  
**Bibliografia brasileira de nematóides.** v.2. Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 400 p. 2002. (Documento 76).

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

## **CAPÍTULO II**

### **OCORRÊNCIA DE *Meloidogyne enterolobii* EM POMARES DE GOIABEIRAS EM MUNICÍPIOS DO ESTADO DO CEARÁ**

## RESUMO

Dentre os problemas que afetam a cultura da goiaba (*Psidium guajava* L.), o nematoide das galhas *Meloidogyne enterolobii*, pode provocar perdas de até 100% da produção, tornando inviável seu cultivo aos quatro anos em campo. Foi assinalado pela primeira vez no Brasil nos municípios de Petrolina-PE, Curaçá e Maniçoba-BA, e em seguida em outros estados brasileiros causando danos severos em plantios comerciais de goiabeira. No Estado do Ceará a primeira constatação foi em goiabeira cv. 'Paluma' em pomares comerciais situados no município de Limoeiro do Norte. Posteriormente, foi constatado em goiabeiras no município de Barbalha-CE, em alta infestação ocasionando perdas em torno de 22% do total da área plantada. Além da goiaba, o nematoide já foi encontrado parasitando diversas outras culturas dentre olerícolas, ornamentais e também em plantas de vegetação espontânea. O Estado do Ceará possui pólos de produção irrigada com mais de 70.000 ha com destaque para a fruticultura com o cultivo de abacaxi, acerola, banana, coco, goiaba, graviola, mamão, manga, maracujá e outras. Pretendeu-se com este trabalho verificar a ocorrência de *M. enterolobii* em pomares de goiabeiras de municípios do estado do Ceará, empregando a configuração perineal e eletroforese em gel de poliacrilamida com a isoenzima esterase e identificar hospedeiras nativas. Amostras do sistema radicular obtidas de 20 plantas de goiaba, quatro de falsa serralha (*Emilia fosbergii* Nicolson) e cinco de jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) ocorrendo naturalmente nos pomares da mirtácea foram coletadas em 13 municípios do estado. Após o processamento das amostras em laboratório, fêmeas foram extraídas de todas as amostras e analisadas por meio de cortes perineais e eletroforese de isoenzimas em gel de poliacrilamida. Detectou-se apenas o fenótipo de esterase M2, típico de *M. enterolobii* para todas as amostras analisadas. Este nematoide pode tornar-se uma ameaça ao cultivo comercial da fruteira, caso práticas efetivas de controle não sejam adotados para evitar a disseminação dessa praga em áreas isentas do nematoide.

**Palavras-chave:** Nematoide das galhas. *Psidium guajava*. Eletroforese. Esterase.

## ABSTRACT

Among the problems that affect the culture of the guava (*Psidium guajava* L.), it is the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* dead can cause losses of up to 100% of the production, therefore, making it impractical for cultivation during a period of four years in the fields. This was first noted in the municipalities of Petrolina-PE, Curaçá and Maniçoba-BA, as well as in other Brazilian States in Brazil, causing severe damage in the commercial plantations of the guava. The first observation was with the guava cv. 'Paluma' in the commercial orchards located in the city of Limoeiro do Norte located in the State of Ceará. Furthermore, the guava was found in the municipality of Barbalha-CE, with a high infestation of it, causing losses of about 22 % of the total planted area. Besides the guava, the nematode has been found parasitizing several other crops in between vegetable crops, ornamental plants and in spontaneous vegetation. The state of Ceará has poles of irrigated production with more than 70.000 ha for the horticulture with emphasis in the cultivation of pineapple, acerola, banan, coconut, guava, soursop, papaya, mango and passion fruit among others. The objective of this study is to evidence the occurrence of the *M. enterolobii* in the guava orchards of the municipalities in the State of Ceará, applying the perineal configuration and electrophoresis in the polyacrylamide gel with esterase. The samples duly obtained from the radiculara system in twenty guava plants, being four of *Emilia fosbergii* Nicolson and five of *Solanum paniculatum* L., were collected occurring naturally in the myrtaceous orchards of 13 municipalities in the aforesaid State. After processing the said samples in a laboratory, the females species were collected from all the samples and properly analyzed through perineal cuts and the isoenzyme electrophoresis with the polyacrylamide gel. Only the phenotype M2 esterase, typical of the *M. enterolobii* was detected for all the samples duly analyzed. This particular nematode can become a threat to the commercial cultivation of fruit trees, in the event appropriate effective control practices are not promptly adopted, in order to prevent the spread of this said pest in the nematode free areas.

**Keywords:** Root-knot nematodes. *Psidium guajava*. Electrophoresis. Esterase.

## 1 INTRODUÇÃO

Apesar das divergências sobre sua origem, a goiabeira (*Psidium guajava* L.) é hoje encontrada em quase todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo, em virtude da sua fácil adaptação a diferentes climas (GONZAGA NETO *et al.*, 2001).

A goiaba se destaca entre as frutas tropicais brasileiras em decorrência do seu agradável aroma e sabor peculiar, além do elevado valor nutricional. Seu consumo pode ser *in natura*, ou pelo processamento da fruta na indústria, como sucos, néctares, polpas, sorvetes, geléias e compotas, como também servindo de ingrediente na preparação de iogurtes, gelatinas e molho doce (guatchup). A goiaba é rica em vitaminas C e pró-vitamina A, também é bastante energética, contendo calorias e possuindo teores de açúcares, ferro, cálcio, fósforo e vitamina B superiores à maioria das frutas (BARBOSA; LIMA, 2010).

A área plantada com goiabeiras no Brasil referente ao ano de 2012 foi de 15.231 hectares e com produção de 345.332 toneladas, sendo o Nordeste a principal região produtora de goiaba participando com 161.116 toneladas. O Estado do Ceará é o segundo maior produtor da região, antecedido apenas por Pernambuco (IBGE, 2013).

O Programa de Agricultura Irrigada possui aproximadamente 90 mil hectares irrigados, dos quais 38,4 mil hectares são empregados para o cultivo de frutas. Na área irrigada há também potencial para produção irrigada da goiaba que está sendo implantada em quase todos os pólos de irrigação do Ceará (ADECE, 2013).

Até recentemente doenças causadas por fitonematóides na goiabeira não eram conhecidas pelos produtores. Plantas subdesenvolvidas e frutos pequenos, atribuídos a problemas nutricionais e ao ataque de fitonematóides à goiabeira, foram relatados pela primeira vez no Brasil por Moura e Moura (1989). Atualmente, sabe-se que os fitonematóides são fatores limitantes da produção e da qualidade de frutos de goiaba em várias partes do mundo.

Segundo Natale *et al.* (2009), associados à cultura da goiaba são registrados numeroso gêneros e espécies de fitonematóides como *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica*, *Radopholus* sp., *Rotylenchulus reniformis*, *Helicotylenchus nannus* e *Aphelenchus avenae*. Dentre os fitonematóides os mais importantes pertencem ao gênero *Meloidogyne*, conhecido como nematóide das galhas, em virtude da sua ampla distribuição geográfica, extensa gama de hospedeiros, difícil controle em condições de campo e elevadas perdas na produção, destacando as espécies *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* como as espécies mais prejudiciais à agricultura mundial. Além das espécies citadas,

*M. enterolobii* (= *M. mayaguensis* Rammah & Hirschmann, 1988), tem sido motivo de pesquisas recentes no Brasil e no mundo por ser altamente virulenta e representar uma ameaça à diversas culturas.

*Meloidogyne enterolobii* foi inicialmente descrita a partir de populações provenientes de raízes de *Enterolobium contortisiliquum* (tamboril ou orelha-de-negro), na ilha de Hainan, no Sul da China (YANG; EISENBACK, 1983), enquanto que a espécie *M. mayaguensis* foi relatada pela primeira vez na cultura de berinjela em Porto Rico (RAMMAH; HIRSCHAMANN, 1988).

*Meloidogyne enterolobii* foi relatada no Brasil em 2001 nos municípios de Petrolina-PE, Curaçá e Maniçoba-BA, causando danos severos em plantios comerciais de goiabeira, sendo na época denominada de *M. mayaguensis* (CARNEIRO *et al.*, 2001). Embora *M. mayaguensis* tenha sido considerada como uma nova espécie, estudos conduzidos por Xu *et al.* (2004) com as espécies *M. enterolobii* e *M. mayaguensis* envolvendo características morfológicas, de gama de hospedeiros, de fenótipos isoenzimáticos (esterase e malato desidrogenase) e com as análises das sequências do mtDNA, possibilitaram esclarecer que ambas eram a mesma espécie.

Após o primeiro relato de *M. enterolobii* em goiabeira nos Estados de Pernambuco e Bahia, esta foi assinalada em vários outros estados brasileiros como: Rio de Janeiro (LIMA *et al.*, 2003), Rio Grande do Norte (TORRES *et al.*, 2004), Ceará (TORRES *et al.*, 2005), São Paulo (ALMEIDA *et al.*, 2006), Paraná (CARNEIRO *et al.*, 2006a), Piauí (SILVA *et al.*, 2006), Espírito Santo (LIMA *et al.*, 2007), Mato Grosso (SOARES *et al.*, 2007), Mato Grosso do Sul (ASMUS *et al.*, 2007), Minas Gerais (OLIVEIRA *et al.*, 2007), Paraíba (GOMES *et al.*, 2007), Maranhão (SILVA *et al.*, 2008), Santa Catarina e Rio Grande do Sul (GOMES *et al.*, 2008), Goiás (SIQUEIRA *et al.*, 2009) e Tocantins (CHARCHAR *et al.*, 2009).

A infestação de *M. enterolobii* debilita as plantas de um pomar de goiabeiras, tornando inviável seu cultivo após quatro anos em campo (MOREIRA *et al.*, 2003). Já Pereira *et al.* (2009) estimaram um prejuízo de 112,7 milhões de reais nas regiões produtoras de goiaba parasitada por *M. enterolobii*, causando desemprego a trabalhadores rurais devido o declínio e morte das plantas. Castro *et al.* (2007) também relataram essa espécie infestando as raízes de maxixe (*Cucumis anguria* L.), apaga-fogo (*Alternanthera tenella* Colla), jitirana-cabeluda (*Merremia aegyptia* L.) e meloso-da-flor-roxa (*Marsypianthes chmaedrys* Vali.) coletadas em área cultivada com goiabeiras no município de Petrolina-PE.

Essa espécie de nematoide é muito importante no Brasil, onde a sua disseminação ocorre em vários estados brasileiros de maneira rápida, tornando-se prejudicial ao cultivo de goiaba com redução da produtividade, como também a introdução dessa espécie em áreas isentas cultivadas com goiabas ou outras culturas suscetíveis (PEREIRA *et al.*, 2009).

Os sintomas primários de goiabeiras quando infestadas por *M. enterolobii* são os de galhas de grandes dimensões no sistema radicular acompanhadas de necroses, diminuição drástica das raízes finas. O nematoide parasita todos os tipos de raízes, desde as radículas superficiais até a raiz pivotante, localizada a mais de 50 cm de profundidade. Já os sintomas secundários em campo são os de forte bronzeamento de bordos de folhas e ramos, seguido de amarelecimento total da parte aérea, culminando com o desfolhamento generalizado e morte súbita da planta (CARNEIRO *et al.*, 2001).

Situação semelhante ocorreu no distrito irrigado dos Tabuleiros Litorâneos no município de Parnaíba-PI, no qual mudas infestadas de goiabeira ‘Paluma’ provenientes de Petrolina foram igualmente introduzidas (SILVA *et al.*, 2006). Posteriormente, o nematoide foi também constatado associado a raízes de goiaba no município de Picos-PI (SOUSA *et al.*, 2012). No Estado do Rio Grande do Norte o parasitismo de *M. enterolobii* em goiabeira foi relatado inicialmente no município de Touros e depois no município de Assu e em plantio comercial de pimentão ‘Comandante’ no município de Baraúna (TORRES *et al.*, 2007). Isto provavelmente explica o fato de, em tão pouco tempo, o nematoide foi disseminado para diversas regiões do País (CARNEIRO *et al.*, 2003; TORRES *et al.*, 2007).

No Estado de São Paulo, *M. enterolobii* foi detectada pela primeira vez parasitando porta-enxerto de pimentão ‘Silver’ e os tomateiros ‘Andréia’ e ‘Débora’ resistentes a *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria*, provocando perdas nessas culturas nos municípios de Pirajuí, Santa Cruz do Rio Pardo, Reginópolis e Campos Novos Paulista (CARNEIRO *et al.*, 2006b). Em Jaboticabal-SP plantas daninhas hospedeiras de *M. enterolobii* foram encontradas vegetando espontaneamente em pomares de goiabeira infestados: picão-preto (*Bidens pilosa* L.), capim-colchão (*Digitaria horkontalis* L.), caruru (*Amaranthus retroflexus* L.), erva-de-santa-luzia (*Chamaesyce hirta* (L.) Milisp.), maria-pretinha (*Solanum americanum* Mill), sojinha (*Cleome affii*) e buva (*Conyza canadenses* L.) (ALMEIDA *et al.*, 2011). Carneiro *et al.* (2006b) relataram que provavelmente *M. enterolobii* é uma espécie nativa no Estado de São Paulo e vem sendo disseminada nessa região por implementos agrícolas, pois áreas distantes pertencentes ao mesmo produtor encontram-se infestadas pelo nematoide, sem que haja evidências de introduções de mudas contaminadas provenientes de outras regiões do país. Foi sugerido pelos autores que o nematoide está



presente há muito tempo nessas áreas, ou seja, que essa espécie não fora introduzida, mas que já ocorria na região, e que sua presença tenha sido diagnosticada apenas após a introdução de cultivares resistentes a *Meloidogyne* spp. Por outro lado, Lima *et al.* (2005), ao analisarem amostras de áreas preservadas da Mata Atlântica, encontraram *M. enterolobii*. Por esse motivo, apropriadamente, afirmaram que solos de mata não devem ser utilizados em viveiros sem um tratamento adequado contra os nematoides. A origem de *M. enterolobii*, ainda é questionada, pois existem outros relatos dessa espécie ocorrendo naturalmente.

*Meloidogyne enterolobii* foi constatado em São João da Barra-RJ associado a cultura da goiaba e também em outras plantas cultivadas e invasoras em meio a pomares, revelando 14 novos hospedeiros naturais, distribuídos em 12 famílias botânicas. Os hospedeiros naturais foram acerola (*Malpighia puniceifolia* L.), beldroega-pequena (*Chamaesyce prostrata* Small), cacto (*Cereus fernambucensis* Lemiaire), caruru-branco (*Amaranthus hybridus* L.), fedegoso (*Senna occidentalis* L.), gaiolinha (*Euphorbia tinucalli* L.), mamão (*Carica papaya* L.), maracujá-do-mato (*Passiflora mucronata* Lam.), maria-gorda (*Talinum triangulare* Willd), maria-pretinha, mata-pasto (*Senna alata* L.), para-sol (*Hidrocotyli bonariensis* Comm.), serralha (*Emilia sonchifolia* L.) e urtiga (*Cnidocolus urens* L.) (LIMA *et al.*, 2003; SOUZA *et al.*, 2006). Castro *et al.* (2009) também identificaram *M. enterolobii* em raízes de aceroleiras coletadas em Petrolina- PE com maior frequência que as espécies *M. incognita*, *M. arenaria* e *M. javanica*.

O primeiro registro da ocorrência de *M. enterolobii* nas culturas de alface (*Lactuca sativa* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), pimentão e tomate cereja (*Solanum lycopersicum cerasiforme*) cultivadas em estufas no município de Chapada dos Guimarães-MT, e o primeiro em soja (*Glycyne max* L.) no município de Ituverava- SP foram relatados por Almeida *et al.* (2008). Também no Mato Grosso, foi relatada a primeira ocorrência de *M. enterolobii* em mudas de muricizeiro (*Byrsonima cydoniifolia* A. Juss.), planta nativa da Amazônia, e em mudas de goiabeira com perdas superiores a 80% evidenciando a necessidade de erradicação de todas as plantas do viveiro, bem como a adoção de práticas que garantissem o substrato livre de nematoides (PAES *et al.*, 2012).

O primeiro registro deste nematoide no Estado do Paraná foi em goiabeira no município de Santa Mariana. *M. enterolobii* foi isolado de raízes de uma orquídea nativa (*Oeceoclades maculata* Lindl), de picão preto (*Bidens pilosa* L.), de abóbora (*Cucurbita pepo* L.) e de caruru amargoso (*Erechtites hieraciifolius* L.) presentes no goiabal (CARNEIRO *et al.*, 2006b).

Gomes *et al.* (2008) registraram a ocorrência de *M. enterolobii* em goiabeiras no Município de Roca Sales-RS e em plantas de fumo nos municípios de Santa Rosa do Sul e Içara-SC.

A primeira constatação desse nematoide no Ceará foi relacionada a amostras de raízes de goiabeira 'Paluma' provenientes de um pomar comercial situado no município de Limoeiro do Norte, formado a partir de mudas provenientes do município de Petrolina-PE. A identificação da espécie do nematoide das galhas foi realizada por meio da análise do fenótipo de esterase (TORRES *et al.*, 2005). Ainda no Ceará, após avaliarem o manejo e a viabilidade econômica de uma área implantada com goiabas no assentamento Estrela no município de Barbalha-CE, Moura *et al.* (2011) consideraram a infestação deste nematoide bastante elevada e os resultados da avaliação ali conduzida indicavam para os autores perdas em torno de 22% do total da área plantada e uma previsão de 100% de perdas foi anunciada para o caso dessa infestação não ser controlada.

Esses nematoides são polípagos e mesmo em início de infestação podem danificar muito um cultivo de plantas hospedeiras, pois possuem alta taxa de reprodução. A disseminação de *M. enterolobii* no país ocorre por meio de mudas contaminadas. Isto provavelmente justifica o fato de, em tão pouco tempo, o nematoide ser disseminado para diversas regiões do País (CARNEIRO *et al.*, 2003; TORRES *et al.*, 2007).

Para evitar a sua rápida dispersão no país, são requeridos cuidados envolvendo a inspeção e medidas quarentenárias que impeçam o trânsito de material vegetal infestado como também buscar a aquisição de mudas em viveiros certificados isentos do nematoide em questão (CARNEIRO *et al.*, 2001).

Diante do que foi abordado e considerando a rapidez da disseminação do *Meloidogyne enterolobii* nas áreas cultivadas, objetivou-se:

- 1) Constatar a presença de *Meloidogyne enterolobii* em raízes de goiabeiras e plantas silvestres coletadas;
- 2) Verificar o comportamento do nematoide identificado em plantas diferenciadoras;
- 3) Identificar hospedeiros naturalmente infestadas por *M. enterolobii* nos municípios do Ceará.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Coleta das amostras em campo

Em visitas a pomares de goiabeiras, vinte e nove amostras de raízes foram coletadas em 13 municípios no Estado do Ceará pertencentes a oito diferentes microrregiões: Limoeiro do Norte e Quixeré (Microrregião do Baixo Jaguaribe), Barbalha, Crato, Juazeiro do Norte e Missão Velha (Microrregião do Cariri), Cascavel (Microrregião de Cascavel), Fortaleza e Guaiuba (Microrregião de Fortaleza), Acaraú (Microrregião de Camocim e Acaraú), Pentecoste (Microrregião do Médio Curu), Mauriti (Microrregião de Barro) e Pacajus (Microrregião de Pacajus) (Figura 9).

Geralmente as plantas amostradas apresentavam crescimento reduzido, folhas com amarelecimento, outras com bronzeamento de bordos e até mesmo com o desfolhamento generalizado (Figura 10). As amostras provenientes das coletas realizadas nestes municípios eram compostas de raízes retiradas de goiabeiras com galhas e um pouco de solo, para conservá-las, e de algumas raízes com galhas de plantas silvestres crescendo espontaneamente próximas às plantas de goiabeiras parasitadas pelo nematoide.

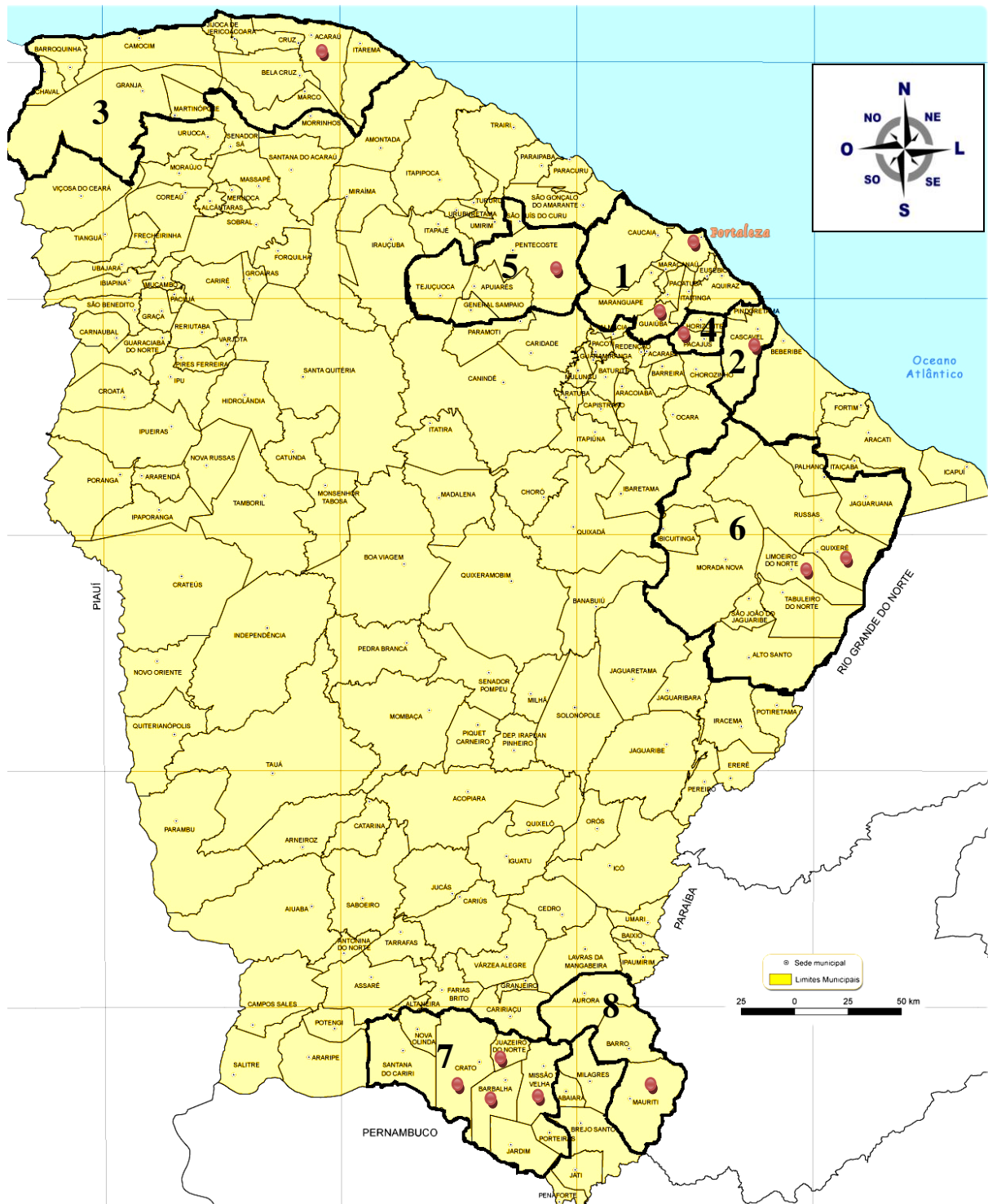
Todo o material coletado (raízes de goiabeira e de plantas silvestres) foi encaminhado ao Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Ceará para as observações, análises e registros. Primeiramente as raízes foram lavadas para a remoção do solo e depois selecionadas para serem examinadas (Figura 11). Após a lavagem das raízes foi possível por meio de análise visual detectar a presença de galhas e de massas de ovos.

Visando multiplicar e manter as populações de nematoides coletadas nas inspeções, partes das raízes das goiabeiras selecionadas foram empregadas na obtenção de suspensão de nematoide a qual foi usada para inocular plantas de cóleus (*Solenostemon scutellarioides* L.), antes da confirmação da espécie por eletroforese e configuração perineal.

### 2.2. Procedimento para extração de nematoides das raízes e inoculação

A extração de ovos e J2 do nematoide foi efetuada por meio da técnica de Coolen e D'Herde (1972), empregando-se o caolim. As raízes com galhas foram trituradas em

Figura 9 - Mapa do Ceará com a localização dos municípios onde foram coletadas amostras de raízes de goiabeira com galhas para identificação de espécies de *Meloidogyne* no período de 2011 a 2013.



1- Microrregião de Fortaleza; 2- Cascavel; 3- Litoral Camocim e Acaraú; 4- Pacajus; 5-Médio Curu; 6- Baixo Jaguaribe; 7- Cariri; 8- Barro.

Figura 10- (A) goiabeira apresentando crescimento reduzido no município de Acaraú; (B) planta com desfolhamento generalizado no município de Barbalha e (C) galhas em raízes próximas ao caule de goiabeira, no município de Acaraú.



Fotos: (A) F.J.C. Moreira, 2013; (B e C) M.C.L.Silva 2013.

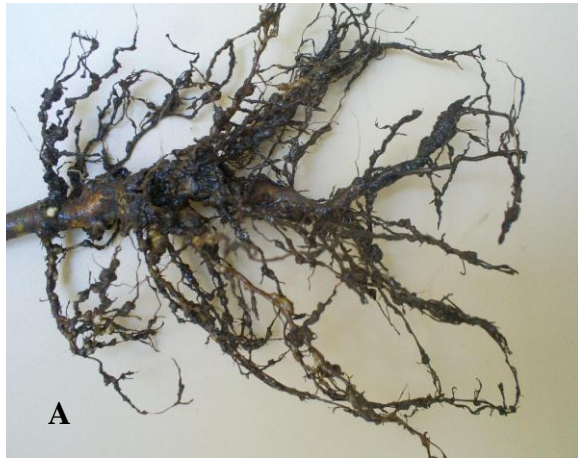
liquidificador com água e NaOCl a 0,5%. Após trituração, a suspensão foi vertida em peneiras de 20 mesh e de 400 mesh. Em seguida, a suspensão de nematoides foi recolhida em tubos plásticos adicionando-se caolim e centrifugando-se a 1.750 rpm por 5 minutos. Após descarte do sobrenadante, adicionou-se a cada tubo solução de sacarose a 45%, efetuando-se a ressuspensão do sedimento. Procedeu-se a uma nova centrifugação a 1.750 rpm por 1 minuto. O sobrenadante foi recolhido e então realizada a contagem de ovos em câmara de Peters, para calibração da suspensão.

As suspensões de ovos e juvenis obtidas tanto de raízes de goiabeiras como de plantas daninhas coletadas, foram inoculadas em mudas de cóleus em vasos plásticos com capacidade de 2 Kg com uma mistura de solo e esterco autoclavado na proporção 2:1.

Para a inoculação foram empregados cerca de 4.000 ovos/J2 por planta de cóleus e, ou tomateiro 'Santa Clara' de suspensões obtidas tanto de raízes de goiabeiras como das plantas silvestres coletadas. As mudas estavam mantidas em vasos plásticos com capacidade de 2 Kg com uma mistura de solo e esterco autoclavado na proporção 2:1. Após a



Figura 11- Raízes de goiabeiras com galhas coletadas em pomares nos municípios do Ceará: (A) Cascavel; (B) Pacajus; (C) Acaraú; (D) Barbalha, (E) Crato e (F) Guaiuba.



Fotos: M.C.L. Silva

inoculação, cada vaso foi etiquetado com a identificação da planta hospedeira e do município, e as plantas foram mantidas em casa de vegetação ( $29\pm 4^{\circ}\text{C}$ ).

### **2.3 Caracterização morfológica das espécies de *Meloidogyne***

As populações de nematoides coletadas em raízes de goiabeiras foram caracterizadas através da configuração da região perineal. Fêmeas foram individualmente retiradas das raízes com galhas utilizando-se estilete e, sob microscópio estereoscópico, colocadas numa lâmina de microscopia com água onde foi feito o corte da região perineal empregando-se bisturi. Em seguida, cobriu-se o corte retirado da fêmea com uma lamínula para exame ao microscópio ótico para a identificação das espécies com base nos conhecidos padrões de configurações já definidos na literatura.

### **2.4 Caracterização isoenzimática das populações de *Meloidogyne***

De cada amostra de raiz coletada com galhas, foram retiradas, individualmente, fêmeas adultas de coloração branco-leitosa e em plena oviposição. As fêmeas foram transferidas para microtubos contendo 15  $\mu\text{L}$  de solução tampão para extração de proteínas (20% sacarose, 2% de Triton X-100, 0,01% de azul de bromofenol e 78% de água destilada). Após maceração das fêmeas no tampão foram colocadas no freezer para uso posterior em eletroforese. Empregou-se o método descontínuo de eletroforese vertical em géis de poli(acrilamida) (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990; CARNEIRO; ALMEIDA, 2001; ALFENAS; BRUNE, 2006).

Os géis de empilhamento e de corrida foram preparados, respectivamente, nas concentrações de 4 % (500,00 $\mu\text{L}$  de bis-acrilamida, 1,25 mL de tris-HCl (pH 6,8), 45  $\mu\text{L}$  de persulfato de amônio, 10  $\mu\text{L}$  de temed e 3,10 mL de água destilada) e de 7,5 % (2,5 mL de bis-acrilamida, 1,88 mL de tris-HCl (pH 8,8), 45  $\mu\text{L}$  de persulfato de amônio, 10  $\mu\text{L}$  de temed e 5,75 mL de água destilada). Nas cavidades do gel foram adicionados 10 $\mu\text{L}$  da extração de proteínas obtidas das fêmeas maceradas. Proteínas obtidas de *M. javanica* (amostra padrão) foram adicionadas a pelo menos uma cavidade de cada gel para ter a comparação dos padrões de esterase (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990; CARNEIRO; ALMEIDA, 2001; ALFENAS; BRUNE, 2006).

A eletroforese foi conduzida a  $4^{\circ}\text{C}$ , sob voltagem constante de 80 V na corrida de empilhamento (30-40 minutos) e a 200V para a etapa de separação (40-60 minutos). Ao final

da corrida, os géis foram retirados das placas e submetidos a revelação para a enzima esterase em solução de contendo 100 mL de solução tampão fosfato, 100 mg de Fast Blue RR Salt e 4,5 mL de  $\alpha$ -naftilacetato 1%, na qual permaneceu no escuro a 37°C por 30 minutos. Após a revelação, os géis foram transferidos para uma solução fixativa (45% de metanol, 9% de ácido acético e 45% de água destilada), por 20 minutos a 37°C no escuro (ALFENAS; BRUNE, 2006).

Na secagem do gel, utilizou-se uma folha de papel-celofane úmida apoiada sobre um bastidor de madeira no qual o gel foi posto. Em seguida, outra folha de papel-celofane, igualmente umedecida cobriu o gel que foi pressionado como novo arco para evitar formação de bolhas. Diminutas perfurações com a ponta de estilete foram feitas no papel-celofane, às margens do gel, para remoção de bolhas ocasionalmente formadas. Decorridos 3 a 4 dias em temperatura ambiente, o gel seco com o celofane aderido foi removido dos bastidores, cortado e etiquetado com a devida análise dos resultados pela observação das bandas comparadas com as bandas da espécie *M. javanica*, padrão.

## **2.5 Caracterização fisiológica das populações de *Meloidogyne***

Algumas populações do nematoide identificado por eletroforese, provenientes de goiabeiras, foram submetidas ao teste de hospedeiros diferenciadores (HARTMAN; SASSER, 1985), para investigar como a espécie se comportaria nestes hospedeiros. Empregaram-se mudas de algodão (*Gossypium hirsutum* 'Deltapine 16'), fumo (*Nicotiana tabacum* 'NC 95'), pimentão (*Capsicum frutescens* 'Early Califórnia Wonder'), melancia (*Citrillus vulgaris* 'Charleston Gray'), amendoim (*Arachis hypogaea* 'Florunner'), tomate (*Lycopersicon esculentum* 'Santa Clara') e cóleus como controle positivo.

As mudas produzidas na mistura de solo e esterco autoclavado na proporção (2:1) foram inoculadas individualmente com suspensão de 4.000 ovos e juvenis após o transplante, conforme metodologia de Coolen e D'Herde (1972).

As plantas foram mantidas em casa de vegetação (29 $\pm$ 4°C) após a inoculação por 45 dias para avaliação do sistema radicular quanto à presença ou ausência de galhas.



### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

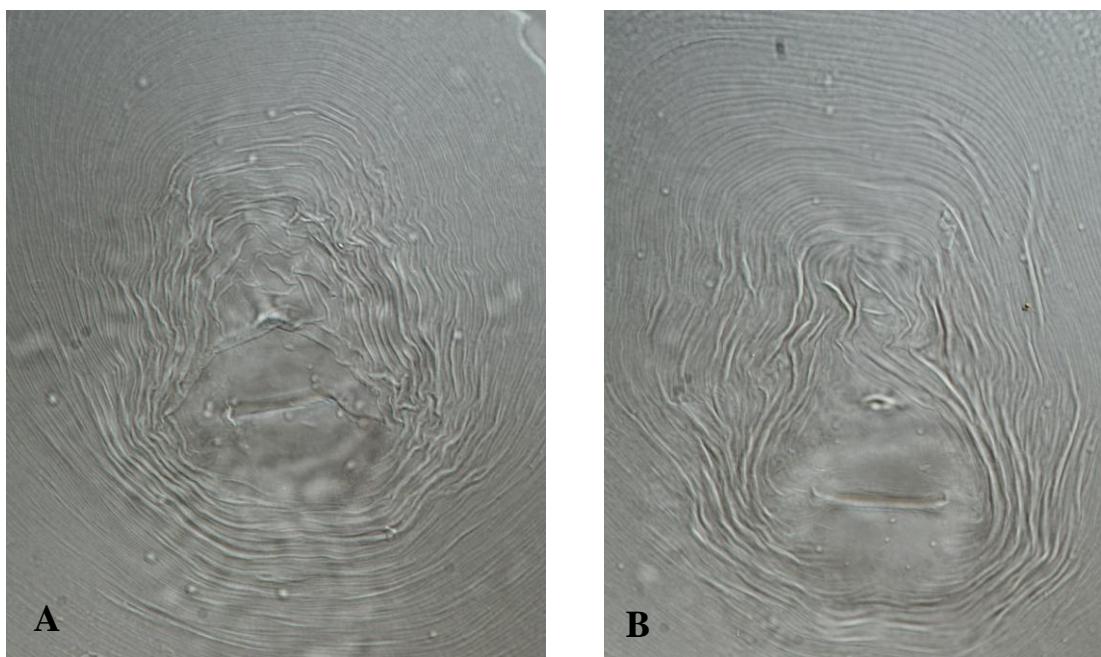
A análise ao microscópio ótico da região perineal obtida de fêmeas retiradas de raízes de goiabeiras infestadas com o nematoide das galhas e coletadas em campo, não foi conclusivo a nível de espécie, em virtude da grande variação nos padrões obtidos que por vezes tinham semelhança com a configuração perineal da espécie *M. incognita* (Figura 12). Observações similares foram relatados por Torres *et al.* (2005), os quais não conseguiram identificar as espécies de *Meloidogyne* proveniente de raízes de goiaba pelo padrão perineal, uma vez que a configuração, na maioria dos casos, apresentavam-se próximos aos padrões de *M. incognita* ou atípicos.

A identificação do nematoide nas goiabeiras neste trabalho só foi possível com a análise eletroforética realizada mediante comparação da posição das bandas de esterase no gel de poliacrilamida com as bandas de esterase de *M. javanica* (padrão). Constatou-se a presença dos padrões típicos de *M. enterolobii* em todas as raízes de goiabeiras, coletadas como também nas plantas silvestres encontradas espontaneamente em pomares infestados dos 12 municípios de oito microrregiões do estado (Tabela 4). Em apenas uma amostra de raiz de goiabeira proveniente do município de Quixeré não foi possível identificar a espécie em razão de infestação recente ainda sem presença de fêmeas maduras.

Segundo Carneiro *et al.* (2003) a região perineal de fêmeas de *M. enterolobii* mostra acentuada variabilidade e alguns padrões apresentam muita semelhança com a espécie *M. incognita*. Em estudos realizados por Silva e Oliveira (2010), as configurações perineais de fêmeas retiradas de raízes de goiaba, não foram conclusivos para a espécie *M. enterolobii*, devido a observação de variabilidade nos padrões perineais. De acordo com Almeida *et al.* (2008) a distinção segura entre as espécies *M. enterolobii* e *M. incognita* podem se dar pela configuração perineal aliado à morfologia da região labial dos machos. Paes *et al.* (2012), porém, relataram a primeira ocorrência de *M. enterolobii* em mudas de muricizeiro (*Byrsonima cydoniifolia*) e de goiabeira no Estado de Mato Grosso com base nos caracteres morfológicos do padrão perineal e da região labial dos machos e também pelo fenótipo isoenzimático de esterase.

O perfil de esterase observado em géis neste trabalho revelou duas bandas principais bem evidentes e duas bandas secundárias mais tênues, característico da espécie *M. enterolobii* conforme descreve Carneiro *et al.*, (2000), tanto para as amostras de goiaba como

Figura 12 - Configurações perineais: de *M. enterolobii* provenientes de goiaba do município de Cascavel (A); *M. incognita* (B).



Fotos : J.M. Santos.

as amostras de jurubeba e falsa serralha, plantas presentes nos pomares. Os padrões enzimáticos encontram-se ilustrados na Figura 13.

Resultados semelhantes foram constatados por Silva e Oliveira (2010) com as observações das bandas principais e secundárias de *M. enterolobii* com o uso de pelo menos três fêmeas por cavidade no gel. Ainda segundos os autores com o uso de apenas uma fêmea por cavidade, a visualização era possível apenas das duas bandas principais de *M. enterolobii* no gel. Segundo Carneiro *et al.* (2001) a visualização das bandas secundárias depende da concentração da isoenzima, e que em alguns casos, as bandas secundárias, ou mesmo as principais, não aparecem, daí a necessidade de se usar um maior número de fêmeas.

Os ensaios conduzidos neste trabalho utilizaram o extrato de uma única fêmea por cavidade, o que permitiu a visualização das quatro bandas da espécie.

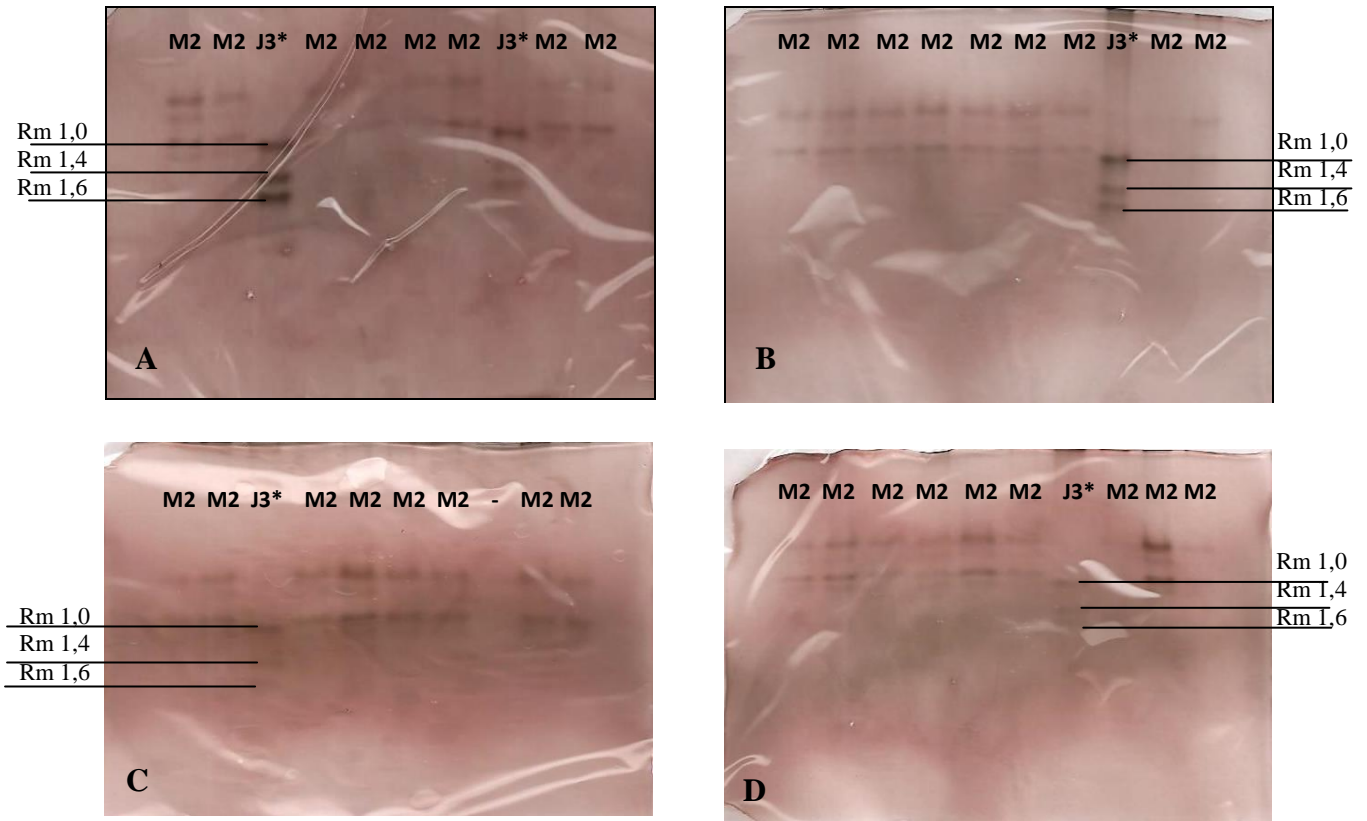
Tabela 4 - Relação de plantas hospedeiras de *Meloidogyne enterolobii* coletadas em pomares de municípios do Estado do Ceará. Fortaleza-CE 2014.

<b>Cultura/planta daninha</b>	<b>Nome Científico</b>	<b>Município</b>
Goiaba	<i>Psidium guajava</i> L.	Acaraú <sup>3</sup>
Falsa serralha	<i>Emilia fosbergii</i> Nicolson	Acaraú <sup>3</sup>
Jurubeba	<i>Solanum paniculatum</i> L.	Acaraú <sup>3</sup>
Goiaba	<i>Psidium guajava</i> L.	Barbalha <sup>7</sup>
Falsa serralha	<i>Emilia fosbergii</i> Nicolson	Barbalha <sup>7</sup>
Jurubeba	<i>Solanum paniculatum</i> L.	Barbalha <sup>7</sup>
Goiaba	<i>Psidium guajava</i> L.	Cascavel <sup>2</sup>
Falsa serralha	<i>Emilia fosbergii</i> Nicolson	Cascavel <sup>2</sup>
Goiaba	<i>Psidium guajava</i> L.	Crato <sup>7</sup>
Jurubeba	<i>Solanum paniculatum</i> L.	Crato <sup>7</sup>
Goiaba	<i>Psidium guajava</i> L.	Fortaleza <sup>1</sup>
Goiaba	<i>Psidium guajava</i> L.	Guaiuba <sup>1</sup>
Goiaba	<i>Psidium guajava</i> L.	Juazeiro do Norte <sup>7</sup>
Goiaba	<i>Psidium guajava</i> L.	Limoeiro do Norte <sup>6</sup>
Goiaba	<i>Psidium guajava</i> L.	Mauriti <sup>8</sup>
Goiaba	<i>Psidium guajava</i> L.	Missão Velha <sup>7</sup>
Falsa Serralha	<i>Emilia fosbergii</i> Nicolson	Missão Velha <sup>7</sup>
Goiaba	<i>Psidium guajava</i> L.	Pacajus <sup>4</sup>
Jurubeba	<i>Solanum paniculatum</i> L.	Pacajus <sup>4</sup>
Goiaba	<i>Psidium guajava</i> L.	Pentecoste <sup>5</sup>
Jurubeba	<i>Solanum paniculatum</i> L.	Pentecoste <sup>5</sup>
Goiaba*	<i>Psidium guajava</i> L.	Quixeré <sup>6</sup>

\*Infestação não confirmada

1- Microrregião de Fortaleza; 2- Cascavel; 3- Litoral Camocim e Acaraú; 4- Pacajus; 5-Médio Curu; 6- Baixo Jaguaribe; 7- Cariri; 8- Barro.

Figura 13 - Fenótipos de esterase de populações de *Meloidogyne enterolobii* provenientes de raízes de plantas coletadas em municípios do Ceará. Gel A) M2 = em goiaba. Gel B) M2= em goiaba e jurubeba. Gel C) M2= em goiaba e falsa serralha. Gel D) M2= em jurubeba e falsa serralha.



J3\* fenótipo de *M. javanica* padrão; M2 = fenótipo de *M. enterolobii* com duas bandas principais.  
Rm= mobilidade relativa.

Os resultados das investigações nas raízes de goiabeira mostraram que *M. enterolobii* já se encontra bem disseminado no Ceará uma vez que amostras coletadas em 13 pomares de oito microrregiões distantes geograficamente, apresentaram infestação pelo mesmo nematoide. Essa disseminação nas microrregiões pode ser considerada rápida, já que o primeiro relato desse nematoide em goiabeiras no estado foi em 2005 por Torres *et al.* (2005) na cv. 'Paluma' no município de Limoeiro do Norte, situado na microrregião do Baixo Jaguaribe. Este patógeno pode, em poucos anos, vir a representar uma ameaça para a exploração comercial da fruteira no estado. Segundo Torres *et al.* (2005), as condições edafoclimáticas favoráveis no estado do Ceará somadas à existência de várias outras hospedeiras do fitoparasita, pode tornar-se um problema fitossanitário de difícil controle nos pomares da região, uma vez que o nematoide poderá encontrar dentre plantas daninhas eficientes hospedeiras que garantirão sua sobrevivência e aumento populacional. Desta forma, a adoção

da rotação de cultura ou do alqueive, periodicamente, deve ser recomendada, pois permitiriam que essas plantas invasoras fossem eliminadas das áreas cultivadas, evitando que as mesmas fiquem multiplicando os nematoides e aumentando a sua população (CASTRO *et al.*, 2007).

A espécie *M. enterolobii* também foi identificada em plantas de jurubeba e de falsa serralha, encontradas vegetando espontaneamente próximas às plantas de goiaba coletadas nos municípios de Acaraú, Barbalha, Cascavel, Missão Velha, Pacajus e Pentecoste. No entanto, em alguns pomares verificou-se que em raízes de plantas de vegetação espontânea crescendo próximo à goiabeiras infestadas, o nematoide não foi constatado, sugerindo a ocorrência de introdução de mudas da fruteira já parasitadas.

Segundo Almeida *et al.* (2011), após análises realizadas em amostras de raízes de plantas daninhas coletadas em pomares de goiabeira infestados em São Paulo, o alto grau de polifagia de *M. enterolobii* se aplica também às plantas invasoras. Para os autores foi possível definir como hospedeiras de *M. enterolobii* espécies: picão-preto (*Bidens pilosa* L.), capim-colchão (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.), caruru (*Amaranthus retroflexus* L.), erva-de-santaluzia (*Chamaesyce hirta* (L.) Millsp.), maria-pretinha (*Solanum americanum* Mill.), sojinha (*Cleome affinis* DC.) e buva (*Conia canadensis* L.). Castro *et al.* (2007) também identificaram algumas plantas daninhas como hospedeiras de *M. enterolobii*, como a apaga-fogo (*Alternanthera tenella* Colla.), jitirana-cabeluda (*Merremia aegyptia* (L.) Urb.), maxixe (*Cucumis anguria* L.) e meloso-da-flor-roxal (*Marsypianthes chamaedrys* (Vahl) Kuntze.) coletadas em pomares de goiabeiras.

A maioria das áreas visitadas com produção de goiaba no Estado do Ceará implantaram seus pomares com mudas adquiridas em viveiros do município de Petrolina-PE, o que leva a crer que o nematoide foi disseminado na área através de mudas infestadas adquiridas em Pernambuco. De acordo com os assentados visitados na Microrregião do Cariri (Crato, Juazeiro do Norte, Barbalha e Missão Velha), há poucas informações a respeito da importância do nematoide das galhas e de sua disseminação nos pomares. Por esta razão, práticas ideais para o devido manejo das culturas para evitar maiores danos do patógeno aos pomares, não são adotadas. Em virtude disto, em alguns assentamentos do Cariri vem ocorrendo uma redução no plantio de goiaba e até mesmo a substituição total da cultura da goiabeira pela cultura da bananeira, como visto no local.

Segundo PAES *et al.* (2012) a entrada de *M. enterolobii* em novas localidades do Mato Grosso foi através de mudas infestadas, constituindo-se numa das principais formas de disseminação deste patógeno e que vêm causando sérios danos às plantas cultivadas no Brasil. Possivelmente a fonte de contaminação das mudas avaliadas no estudo poder ser provenientes

do substrato utilizado não esterilizado previamente, já que a procedência do solo utilizada no substrato é desconhecida. Na área em estudo houve perda de mais de 80% das mudas de goiabeira e muricizeiro, evidenciando a necessidade de erradicação de todas as mudas do viveiro, e principalmente a adoção de práticas que garantam substrato livre de nematoides (PAES *et al.*, 2012).

Durante o levantamento realizado neste trabalho, coletaram-se várias amostras de raízes de mamoeiro de um pomar que substituiu um plantio de goiabeiras. Em todas as amostras detectou-se a presença de *M. enterolobii*, que provavelmente foi introduzida na área com as mudas de goiabeiras. Na ocasião da coleta as plantas de mamoeiro já estavam todas debilitadas, em virtude da alta população de *M. enterolobii* nas raízes. Diante dessa situação, podemos inferir que não é recomendável implantar um pomar de mamão em rotação a goiabeiras em áreas infestadas com *M. enterolobii*, pois essas plantas são também hospedeiras e favoreceriam a multiplicação do nematoide no pomar dificultando mais ainda o seu controle na área. Além de mamoeiro, fruteiras como a aceroleira tem sido também registradas como hospedeiras de *M. enterolobii* e igualmente não devem ser recomendadas para substituição de goiabeiras tendo em vista a suscetibilidade das cultivares comerciais de aceroleiras a essa espécie de nematoide (CASTRO *et al.*, 2009).

De acordo com Gomes *et al.* (2008), as tentativas de controle de *M. enterolobii* têm sido frustradas, devido à indisponibilidade de porta-enxertos de goiabeira resistentes ou tolerantes no mercado, a ineficiência de nematicidas registrados para cultura da goiaba e a morosidade dos órgãos de fiscalização competentes em vistoriar mudas e conter a disseminação do nematóide. Dessa forma, práticas preventivas são necessárias para evitar a disseminação dessa praga em áreas produtoras de goiaba nas quais não está ainda presente.

Em relação ao teste de plantas diferenciadoras realizado com *M. enterolobii*, todas as populações inoculadas comportaram-se como a raça 2 de *M. incognita*, ou seja, fumo, pimentão, melancia e tomate com galhas, e algodão e amendoim com ausência de galhas nas raízes, conforme Hartman e Sasser (1985) (Tabela 5). Esses resultados são semelhantes ao obtido por Carneiro *et al.* (2006b), em ensaios realizados com plantio de mudas das plantas diferenciadoras em solo naturalmente infestado e nas inoculações com suspensão do patógenos em casa de vegetação. Em ambos os ensaios as plantas apresentaram o mesmo comportamento de uma infestação pela raça 2 de *M. incognita*.

O uso de plantas diferenciadoras tem permitido a separação de raças das quatro principais espécies: *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla*. Contudo, pelos resultados deste ensaio verificou-se que este teste não deve ser usado isoladamente pois

Tabela 5 - Comportamento das plantas hospedeiras diferenciadoras inoculadas com *Meloidogyne enterolobii* provenientes de raízes de goiabeiras coletadas em diferentes municípios do Estado do Ceará. Fortaleza-CE 2014.

Municípios	Plantas Hospedeiras Diferenciadoras *					
	Algodão	Fumo	Pimentão	Melancia	Amendoin	Tomate
<b>Acaraú</b>	-	+	+	+	-	+
<b>Barbalha</b>	-	+	+	+	-	+
<b>Cascavel</b>	-	+	+	+	-	+
<b>Crato</b>	-	+	+	+	-	+
<b>Pacajus</b>	-	+	+	+	-	+
<b>Pentecoste</b>	-	+	+	+	-	+

\* = (-) ausência de galhas, (+) presença de galhas (Hartman; Sasser (1985)).

podem ocorrer resultados semelhantes aos das quatro outras espécies, como foi o caso constatado neste ensaio, e por outros autores, com *M. enterolobii* conforme acima mencionado.

#### 4 CONCLUSÕES

*Meloidogyne enterolobii* foi a única espécie identificada em goiabeiras e se encontra presente em diversos pomares da fruteira implantados em oito microrregiões do Estado do Ceará;

O nematoide *M. enterolobii* foi encontrado associado a plantas de falsa serralha (*Emilia fosbergii* Nicolson) e de jurubeba (*S. paniculatum* L.) presentes nos pomares de goiabeira.



## REFERÊNCIAS

- ADECE. **Perfil da produção de frutas Brasil Ceará 2013**. Disponível em: <[http://www.adece.ce.gov.br/phocadownload/Agronegocio/perfil\\_da\\_producao\\_de\\_frutas\\_brasil\\_ceara\\_2013\\_frutal.pdf](http://www.adece.ce.gov.br/phocadownload/Agronegocio/perfil_da_producao_de_frutas_brasil_ceara_2013_frutal.pdf)>. Acesso em: 05 fev. 2014.
- ALFENAS, A.C.; BRUNE, W. Eletroforese em gel de ploacrilamida. In: ALFENAS, A.C. (Ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa, MG: Editora UFV, p. 151-182. 2006.
- ALMEIDA, E.J.; ALVES, G.C.S.; SANTOS, J.M.; MARTINS, A.B.G. Assinalamentos de *Meloidogyne enterolobii* em goiabeira e em plantas invasoras no estado de São Paulo, Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 35, n. (1-2), p. 50-52. 2011.
- ALMEIDA, E.J.; SOARES, L.M.; SANTOS, J.M.; MARTINS, A.B.G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba (*Psidium guajava*) no estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, v.30, n.1, p. 112-113. 2006.
- ALMEIDA, E.J.; SOARES, L.M.; SILVA, A.R.; SANTOS, J.M. Novos registros sobre *Meloidogyne mayaguensis* no Brasil e estudo morfológico comparativo com *M. incognita*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.32, n.3, p. 236-241. 2008.
- ASMUS, G. L.; VICENTINI, E. M.; CARNEIRO, R. M. D. G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no estado de Mato Grosso do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 27, 2007, Goiânia, **Resumos...** Nematologia Brasília, v. 31, n. 2, p. 112, 2007.
- BARBOSA, F.R.; LIMA, M.F. A cultura da goiaba. 2ª. edição revista e ampliada. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. 180p. (Coleção Plantar, 66).
- CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides de galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n.1, p. 35-44. 2001.
- CARNEIRO, R.G.; MONACO, A.P.A.; MORTIZ, M.P.; NAKAMURA, K. C.; SCHERER, A. Identificação de *Meloidogyne Mayaguensis* em goiabeira e em plantas invasoras, em solo argiloso, no estado do Paraná. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.3, p. 293-298. 2006a.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A.; BRAGA, R.S.; ALMEIDA, C.A.; GIORIA, R. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* parasitando plantas de tomate e pimentão resistentes a meloidoginose no estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.1, p.81-86. 2006b.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A.; QUENHERVE, P. Enzyme phenotype of *Meloidogyne* spp. populations. **Nematology**, v.2, p. 645-654. 2000.

CARNEIRO, R.M.D.G.; CARNEIRO, R.G.; NEVES, D.L.; ALMEIDA, M.R.A. Nova raça de *Meloidogyne javanica* detectada em *Arachis pintoi* no Estado do Paraná. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n.2, p. 219-221. 2003.

CARNEIRO, R.M.D.G.; MOREIRA, W.A.; ALMEIDA, M.R.A.; GOMES, A.C.M.M. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v.25, n.2, p. 223-228. 2001.

CASTRO, J.M.C.; CARNEIRO, R.M.D.C.; ALMEIDA, M.R.A.; ANTUNES, E.E. Detecção de hospedeiros alternativos de *Meloidogyne mayaguensis* em área de cultivo de goiabeira em Petrolina-PE. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 27, 2007, Goiânia, **Resumos...** Nematologia Brasília, v. 31, n. 2, p.152. 2007.

CASTRO, J. M. C.; SANTANA, M. L. M. P.; BARBOSA, N. M. L. **Nematóides-das-galhas (*Meloidogyne spp.*) em aceroleira e recomendações de manejo**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2009. p.2 (Embrapa Semiárido. Instruções Técnicas, 87).

CHARCHAR, J.M.; FONSECA, M.E.N.; BOITEUX, L.S.; LIMA NETO, A.F. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no estado do Tocantins. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, n.2, p. 182-186. 2009.

COOLEN, W.A.; D'HERDE. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent, State Agricultural Research Center. 77p. 1972.

ESBENSHADE, P.R.; TRIANTAPHYLLOU, A.C. Isozyme Phenotypes for the Identification of *Meloidogyne* Species. **Journal of Nematology**, v.22, n.1, p.10-15. 1990.

GOMES, C.B.; COUTO, M.E.O.; CARNEIRO, R.M.D.G. Registro de ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e fumo no sul do Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.32, n.3, p. 244-247. 2008.

GOMES, A.R., J.F. FAUSTINO, S.R.S. WILCKEN, R.M.D.G. CARNEIRO, M.M.Q. AMBROSIO & N.L.SOUZA. 2007. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* no Estado da Paraíba. **Fitopatologia Brasileira**, 32(Suplemento): 273 (Resumo).

GONZAGA-NETO, L.; SOARES, J.M.; TEIXEIRA, A.H.C.; MOURA, M.S.B. **Goiaba: Produção, aspectos técnicos**. Embrapa Semi-Árido (Petrolina, PE). Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 72 p. (Frutas do Brasil, 17).

HARTMAN, K.M; SASSER, J.N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal patterns morphology. In: BARKER, K.R.; CARTER, C.C.; SASSER, J.N. (Eds.). **An advanced treatise on Meloidogyne**. V.2. Methodology. North Carolina State University Graphics, Raleigh, p.69-77. 1985.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em:<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=1613&z=p&o=27&i=P>>. Acesso em: 28 nov. 2013.

LIMA, I.M.; DOLINSKI, C.M.; SOUZA, R.M. Dispersão de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabais de São João da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros dentre plantas invasoras e cultivadas. **Nematologia Brasileira**, v.27, n.2, p.257-258. 2003.

LIMA, I. M.; MARTINS, M.V.V.; SERRANO, L.A.L.; CARNEIRO, R.M.D.G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira 'paluma' no estado do Espírito Santo. **Nematologia Brasileira**, v.31, n.2, p.133. 2007.

LIMA, I.M.; SOUZA, R.M.; SILVA, C.P.; CARNEIRO, R.M.D.G. *Meloidogyne* spp. from preserved areas of atlantic forest in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Nematologia Brasileira**, v.29, n.1, p. 31-38. 2005.

MOURA, E.S.; SANTOS, C.A.M.; TORRES FILHO, J. Avaliação do manejo fitossanitário para *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiabeira no município de Barbalha-CE. **3º Encontro Universitário da UFC no Cariri**. 26 a 28 de Outubro de 2011. Universidade Federal do Ceará, Campus Cariri. Juazeiro do Norte-CE. 2011.

MOURA, R.M.; MOURA, A.M. Meloidoginose da goiabeira: doença de alta severidade no estado de Pernambuco, Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 13, p.13-19. 1989.

MOREIRA, W. A.; MAGALHÃES, E.E.; PEREIRA, A.V.S.; BARBOSA, F.R.; LOPES, D.B.; MOURA, A.O.S. Espécies de nematoides das galhas associadas a culturas no submédio São Francisco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 24, 2003, Petrolina. **Resumos...** Petrolina, Nematologia Brasileira, v.27, n.2, p. 257. 2003.

NATALE, W.; ROZANE, D. E.; SOUZA, H. A.; AMORIM, D. A. Cultura da goiaba: do plantio à comercialização. Jaboticabal: FCAV/ UNESP. vol.2. 2009.

OLIVEIRA, R.D.L.; SILVA, M.B.; AGUIAR, N.D.C.; BERGAMO, F.L.K.; COSTA, A.S.V.; PREZOTTI, L. Nematofauna associada à cultura do quiabo na região leste de Minas Gerais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.25, n.1, p. 88-93. 2007.

PAES, V.S.; SOARES, P.L.M.; MURAKAMI, D.M.; SANTOS, J.M.; BARBOSA, B.F.F.; NEVES, S.S. Ocorrência de *Meloidogyne enterolobii* em muricizeiro (*Byrsonima cydoniifolia*). **Tropical Plant Pathology**, v. 37, n.3, p. 215-219. 2012.

PEREIRA, F. O. M. et al. Estimativa do impacto econômico e social direto de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba no Brasil. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF TROPICAL NEMATOLOGY, 2., 2009, Maceió. **Anais...** Maceió: ONTA; SBN, 2009.

RAMMAH, A.; HIRSCHMANN, H. *Meloidogyne mayaguensis* n. sp. (Meloidogynidae), a root-knot nematode from Puerto Rico. **Journal of Nematology**, v.20, n.1, p.58-69. 1988.

SILVA, R. V.; OLIVEIRA, R.D.L. Ocorrência de *Meloidogyne enterolobii* (sin. *M. mayaguensis*) em goiabeiras no estado de Minas Gerais, Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.34, n.3, p. 172-177. 2010.

SILVA, G. S.; PEREIRA, A.L.; ARAÚJO, J.R.G.; CARNEIRO, R.M.D.G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no estado do Maranhão. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.32, n.3, p. 242-243. 2008.

- SILVA, G.S.; SOBRINHO, C.A.; PEREIRA, A.L.; SANTOS, J.M. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no estado do Piauí. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.3, p. 307-309. 2006.
- SIQUEIRA, K.M.S.; FREITAS V.M.; ALMEIDA, M.R.A. SANTOS, M.F.A.; CARES, J.A.; TIGANO, M.S.; CARNEIRO, R.M.D.G. Detecção de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e mamoeiro no estado de Goiás, usando marcadores moleculares. **Tropical Plant Pathology**, v.34, p. 256-260. 2009.
- SOARES, P.L.M.; ALMEIDA, E.J.; SILVA, A.R.; BARBOSA, B.F.F.; SANTOS, J.M. SANTOS. Novos registros sobre *Meloidogyne mayaguensis* no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 27, 2007, Goiânia. **Resumos...** Nematologia Brasileira, v.31, n.2, p. 145. 2007.
- SOUSA, A.D.; BESERRA JR, J.E.A.; REGO, T.J.S.; FARIAS, L.M.O.; CASTRO, J.M.C. Ocorrência de *Meloidogyne enterolobii* em goiabeiras no município de Picos-PI. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 36, n.(3-4), p. 87-89. 2012.
- SOUZA, M.R.; NOGUEIRA, M.S.; LIMA, I.M.; MELARATO, M.; DOLINSK, C.M. Manejo do nematóide das galhas da goiabeira em São João da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros. **Nematologia Brasileira**, v.30, n.2 p.165-169. 2006.
- TORRES, G.R.C.; COVELLO, V.N.; SALES JÚNIOR, R.; PEDROSA, E.M.R.; MOURA, R.M. *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v.29, n.5, p. 570. 2004.
- TORRES, G.R.C.; SALES JR, R.; REHN, V.N.C.; PEDROSA, E.M.R.; MOURA, R.M. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado do Ceará. **Nematologia Brasileira**, v.29, n.1, p.105-107. 2005.
- XU, J.; PEILEI, L.; QINGPENG, M.; HAI, L. Characterisation of *Meloidogyne* species from China using isozyme phenotypes and amplified mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphism. **European Journal of Plant Pathology**, v.110, p.309-315. 2004.
- YANG B.; EISENBACK JD. *Meloidogyne enterolobii* n. sp. (Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing pacara earpode tree in China. **Journal of Nematology**. v. 15, n.1, p. 381-391. 1983.