



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
CURSO DE AGRONOMIA**

FRANCISCO BRUNO DA SILVA CAFÉ

**AVALIAÇÃO DA COMPETIÇÃO ENTRE *Meloidogyne incognita* E *M. enterolobii*
INOCULADOS EM OLERÍCOLAS**

FORTALEZA

2016

FRANCISCO BRUNO DA SILVA CAFÉ

**AVALIAÇÃO DA COMPETIÇÃO ENTRE *Meloidogyne incognita* E *M. enterolobii*
INOCULADOS EM OLERÍCOLAS**

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do Título de Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Profa. Dra. Carmem Dolores Gonzaga Santos.

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C132a Café, Francisco Bruno da Silva.

Avaliação da competição entre *Meloidogyne incognita* e *M. enterolobii* inoculados em olerícolas / Francisco Bruno da Silva Café. – 2016.
47 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2016.

Orientação: Profa. Dra. Carmen Dolores Gonzaga Santos.

1. Nematóide das galhas. 2. Hortaliças. 3. Fitopatologia. I. Título.

CDD 630

FRANCISCO BRUNO DA SILVA CAFÉ

**AVALIAÇÃO DA COMPETIÇÃO ENTRE *Meloidogyne incognita* E *M. enterolobii*
INOCULADOS EM OLERÍCOLAS**

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do Título de Bacharel em Agronomia.

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Carmem Dolores Gonzaga Santos (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Dagoberto Saunders de Oliveira
Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará (ADAGRI)

Engenheira Agrônoma - MSc. Laianny Morais Maia
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais, Antonio e Socorro.

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai Antonio Carlos e à minha mãe Socorro Café, pela amizade, amor, apoio incondicional e por estarem sempre presentes não só nessa etapa muito importante, como também em toda a minha vida.

Minha gratidão à Profa. Dra. Carmem Dolores Gonzaga Santos pelo incentivo, disponibilidade, oportunidade, conselhos, paciência e excelente orientação compartilhando seus conhecimentos.

Aos participantes da banca examinadora Dagoberto Saunders e Laianny Moraes pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos meus amigos do Laboratório de Fitopatologia, Natália, Maciel, Rhannaldy e, principalmente, Laianny, por toda a amizade, ajuda e paciência, comigo e com as eletroforeses.

À minha namorada Isabelle Abreu, pela paciência e pela ajuda em diversos momentos do curso e da vida.

Aos amigos da graduação, Larissa, Tiago, Diego, Joniele, Elber, Dehon, Danyelle, Caroline, Thais, Marina e Lidiane, pela amizade e pelo companheirismo.

Ao meu grande amigo Marcio Regys, pela amizade, por todo o apoio em todos os meus projetos, por todos os resuminhos e pelo acompanhamento psicológico.

À Dra. Ana Cecília, pela orientação na minha primeira bolsa da graduação, pelos conselhos e pela disponibilidade.

A todo o corpo docente que participou desta trajetória desde o colégio, principalmente aos professores do Colégio Juvenal de Carvalho.

Aos meus amigos fora da UFC e familiares, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

*"Para se ter sucesso, é necessário amar de verdade o que se faz. Caso contrário, levando em conta apenas o lado racional, você simplesmente desiste. É o que acontece com a maioria das pessoas."
(Steve Jobs)*

RESUMO

Em todo o mundo há pelo menos 100 espécies do nematoide das galhas, *Meloidogyne* Goeldi. No Brasil, há registro de pelo menos quinze espécies do nematoide, das quais cinco são consideradas as mais importantes afetando culturas no país. Destacam-se as espécies *M. incognita* e *M. enterolobii*, ambas muito disseminadas em áreas de cultivo de fruteiras e hortaliças, nas quais causam perdas consideráveis. A *M. enterolobii* é atribuída ainda uma maior agressividade em razões de infectar material vegetal resistente a *Meloidogyne* spp. Em geral, há escassez de informações sobre a reação de plantas quando parasitadas simultaneamente por dois nematoides do mesmo gênero, como também pouco se sabe sobre o comportamento de nematoides que competem pelo mesmo hospedeiro. Desta forma, objetivou-se neste estudo, avaliar os efeitos resultantes de infecção simples e da infecção combinada de *M. incognita* (Mi) e *M. enterolobii* (Me), sobre a cultivar de tomate 'Carolina', bem como avaliar a resistência do repolho 'Chato de Quintal' aos referidos nematoides. O ensaio foi conduzido em casa de vegetação ($31 \pm 4^{\circ}\text{C}$) e no Laboratório de Fitopatologia da UFC. Mudanças das duas cultivares no estádio de quatro folhas foram transferidas individualmente para vasos contendo solo autoclavado e, após cinco dias, inoculadas com 3.000 ovos/J2 de cada espécie do nematoide. O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado com 09 tratamentos: 1- inoculação de Mi em tomateiro; 2- inoculação de Me em tomateiro; 3- inoculação de Mi seguido da inoculação de Me; 4- inoculação de Me seguido da inoculação de Mi; 5- inoculação simultânea em tomateiro (Mi + Me); 6- inoculação de Mi em repolho; 7- inoculação de Me em repolho; 8-repolho não inoculado; 9- tomateiro não inoculado. Após 45 dias da inoculação, as plantas foram submetidas a avaliação do número de galhas, de massas de ovos nas raízes e do fator de reprodução para se determinar o nível de infecção de cada espécie. Fêmeas retiradas do sistema radicular foram submetidas à técnica de eletroforese de isoenzimas para se determinar a espécie predominante na cultivar de tomateiro. A técnica de eletroforese de isoenzimas comprovou o predomínio de *M. enterolobii* sobre *M. incognita*, independente da ordem de inoculação, sugerindo sua maior agressividade, apesar de não ter sido confirmado o aumento de sua população. A avaliação mostrou que o repolho 'Chato de Quintal', de conhecida resistência a *M. enterolobii*, possui resistência também a *M. incognita*.

Palavras-chave: Interação. Nematoide das galhas. Hortaliças.

ABSTRACT

All around the world there are, at least, one hundred species of the root-knot nematode, *Meloidogyne* Goeldi. In Brazil, at least fifteen species of this nematode are registered, in which five are considered to be the most important affecting the cultures in the country. It's important to highlight *M. incognita* and *M. enterolobii*, both very disseminated in cultivation areas of fruit trees and vegetables, where they cause considerable damage. To *M. enterolobii* is attributed an even bigger aggressivity for infecting vegetal material resistant to *Meloidogyne* spp. In general, there is not too much information about the plants' reaction when infested simultaneously by two nematodes of same kind, as well as little is known about the nematodes behavior which compete for the same host. Therefore, the aim of this work is to evaluate the effects resultant of simple and combined infections of *M. incognita* (Mi) and *M. enterolobii* (Me), about cultivating 'Carolina' tomato and also to evaluate the resistance of 'Chato de Quintal' cabbage to the mentioned nematodes. The essay was conducted in greenhouse ($31 \pm 4^{\circ}\text{C}$) and in UFC's Phytopathology laboratory. Seeds from the two cultivations in the stage of four leaves were transferred individually to vases with autoclavable soil and, after five days, inoculated with 3.000 eggs/J2 of each nematode species. The lineation chosen was entirely causalized with 9 treatments: 1- inoculation of Mi in tomato (Mi + Me); 2- inoculation of Me in tomato; 3- inoculation of Mi followed by Me's; 4- inoculation of Me followed by Mi's; 5- simultaneous inoculation (Mi + Me); 6- inoculation of Mi in cabbage; 7- inoculation of Me in cabbage; 8- cabbage not inoculated; 9- not inoculated tomato. After 45 days of inoculation, the plants were subjected to evaluation of number of root-knots, eggs' mass in roots and the factor of reproduction to determine the level of infection of each species. Females removed from the radicular system were subjected to electrophoresis of isoenzymes to determine the predominant species in the tomato cultivation. The isoenzymes electrophoresis technique proved the predominance of *M. enterolobii* over *M. incognita*, no matter the inoculation order, suggesting its bigger aggressivity, in spite of not being confirmed the raise of its population. The evaluation showed that the 'Chato de Quintal' cabbage, of known resistance to *M. enterolobii*, is also resistant to *M. incognita*.

Keywords: Interaction. Root-knot nematode. Vegetables.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Tratamentos de tomate 'Carolina' e repolho 'Chato de Quintal' inoculados com <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>M. enterolobii</i>	29
Figura 2	Tomateiros 'Carolina' 45 dias após inoculação com <i>M. incognita</i> e <i>M. enterolobii</i>	33
Figura 3	Repolho 'Chato de Quintal' 45 dias após inoculação com <i>M. incognita</i> e <i>M. enterolobii</i>	38
Figura 4	Fenótipos de esterese de populações de <i>M. incognita</i> e <i>M. enterolobii</i> provenientes de raízes de tomateiro 'Carolina' com infecção mista para a determinação da espécie predominante	42

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 Valores do fator de reprodução em tomateiro individualizados por parcela e discriminado de acordo com a metodologia de extração de ovos 37
- Gráfico 2 Porcentagem de fêmeas de *M. incognita* (Mi) e *M. enterolobii* (Me) presentes nos sistemas radiculares de tomateiros discriminado por tratamento 39
- Gráfico 3 Porcentagem de fêmeas de *M. incognita* e *M. enterolobii* presentes nos sistemas radiculares de tomateiro discriminado por tratamento.... 40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Classificação quanto à suscetibilidade das plantas de acordo com o número de massas de ovos (Taylor e Sasser (1978)) modificado por Hadisoeganda e Sasser (1982)	30
Tabela 2	– Médias dos valores do número de galhas (NG), número médio de massas de ovos (NMO) dos seis tratamentos de tomateiros com infecção simples ou mista de <i>M. incognita</i> e <i>M. enterolobii</i>	34
Tabela 3	– Médias dos valores de populações inicial (Pi) e final (Pf) e fator de reprodução (FR) dos seis tratamentos em tomateiros com infecção simples ou mista de <i>M. incognita</i> e <i>M. enterolobii</i>	36
Tabela 4	– Médias dos valores do número de galhas (NG), número médio de massa de ovos (NMO), índice de massa de ovos (IMO) e fator de reprodução (FR) dos dois tratamentos de repolho 'Chato de Quintal' com infecção simples de <i>M. incognita</i> e <i>M. enterolobii</i>	38

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	A cultura do tomate	16
2.2	A cultura do repolho	17
2.3	Fitonematoides	18
2.4	O gênero <i>Meloidogyne</i>	19
2.4.1	<i>Meloidogyne incognita</i>	21
2.4.2	<i>Meloidogyne enterolobii</i>	22
2.5	Interação entre nematoides	24
3	MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1	Espécies vegetais empregadas no experimento	26
3.2	Obtenção do inóculo	26
3.3	Inoculação das plantas	27
3.4	Delineamento experimental	28
3.5	Avaliação final	28
3.5.1	Número de galhas, índice de massas de ovos e fator de reprodução	28
3.5.2	Determinação das espécies de <i>Meloidogyne</i> presentes nas raízes	30
3.5.3	Procedimentos estatísticos	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1	Número de galhas, índice de massas de ovos e fator de reprodução em tomateiros	34
4.2	Número de galhas, índice de massa de ovos e fator de reprodução em repolho	37
4.3	Determinação da espécie de <i>Meloidogyne</i> dominante nas raízes de tomateiro	39
5	CONCLUSÃO	44
	REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887, conhecido como nematoide das galhas, é considerado o mais importante entre os fitonematoides devido à sua alta polifagia, larga disseminação, provocando elevadas perdas na produção por comprometer a qualidade dos produtos agrícolas ou até mesmo por causar a morte da planta (TIHOHOD, 1993). Há pelo menos quinze espécies do nematoide das galhas no Brasil, das quais destacam-se as espécies *M. incognita* Chitwood, 1949, e *M. enterolobii* Yang e Eisenback, 1983, ambas muito disseminadas em áreas de cultivo de fruteiras e hortaliças, nas quais causam perdas consideráveis. A espécie *M. enterolobii* tem causado prejuízos na cultura da goiabeira (*Psidium guajava* L.) e tem sido considerada uma das espécies mais agressivas do gênero (CHARCHAR e MOITA, 1997; RODRIGUEZ *et. al.*, 2007; ROSA *et. al.*, 2015).

Os nematoides das galhas são os mais frequentes nas áreas de produção agrícola mundial. Esses fitonematoides causam modificações morfológicas visíveis no sistema radicular das plantas hospedeiras devido a hipertrofia e a hiperplasia das células na forma de tumores chamados de galhas, porém não matam logo a célula hospedeira com o parasitismo, as células gigantes continuam metabolicamente ativas até o nematoide completar seu ciclo de vida. Com o tempo, além das galhas, as raízes apresentam rachaduras, redução de tamanho e deformação (TIHOHOD, 1993). Além de provocarem essas alterações nas raízes, também reduzem a absorção e o transporte de água e nutrientes, comprometendo ou, em casos extremos, inviabilizando o cultivo (SOARES, 2006).

A prevenção ainda é a forma mais importante de atuar contra os fitonematoides. É mais adequado impedir a introdução e a disseminação destes do que tratar uma área já infestada em razão de seu controle ser muito complexo. Logo a principal medida a ser tomada é sempre utilizar material propagativo sadio. Porém, caso haja a ocorrência dessa importante praga, existem medidas de manejo de nematoides, como: destruição de restos culturais, pousio, revolvimento do solo, adição de matéria orgânica ao solo, solarização, rotação de culturas, implantação de culturas armadilhas e controle biológico. Estes métodos apresentam como principal vantagem a ausência de resíduos, os quais ocorrem com a utilização de produtos químicos. (FERRAZ *et. al.*, 2010). Um problema muito comum se dá pela falta de regulamentação, pois muitos estudos indicam que a provável disseminação da *M.*

enterolobii no Nordeste ocorreu através da comercialização de mudas de goiabeiras com o patógeno (DA SILVA *et. al.*, 2006; TORRES *et. al.*, 2005).

Olerícolas possuem o ciclo vegetativo curto e podem ser exploradas economicamente durante todo o ano. O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) que tem sua origem na América do Sul, nas regiões andinas do Peru, Bolívia e Equador, é a segunda hortaliça mais cultivada do mundo, superado apenas pela batata (*Solanum tuberosum* L.) (SANTOS, 2009). Esta cultura possui diversos problemas com doenças seja de origem fúngica, bacteriana ou virose e, também, altamente suscetíveis às principais espécies de nematoides formadores de galhas sendo, inclusive, usada para manutenção de populações em casa de vegetação a fim de posteriores estudos (CARNEIRO *et. al.*, 2006).

O repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) é uma hortaliça muito cultivada, principalmente no sul e sudeste do Brasil (JOYCES e TAKEMATSU, 2010), diferentemente do tomateiro, não possui grandes limitações fitossanitárias, excetuando alguns insetos como mosca branca (*Bemisia tabaci* Gennadius), pulgão (*Brevicoryne brassicae* L.) e tripes (*Thrips tabaci* Lind.) (VARGAS, 2009; EMBRAPA, 2011). Manso *et. al* (1994) citam várias espécies de fitonematoides afetando a cultura do repolho no Brasil, tais como: *Helycontylenchus dihystra* (Cobb) Sher., *Aphelenchus avenue* Bastian, *M. javanica* (Treub) Chitwood, *M. incognita*. Rosa *et. al* (2015), por outro lado, relatam a resistência do repolho a espécie *M. enterolobii*.

O *M. enterolobii* é tido como o mais agressivo do gênero devido à alta capacidade de reprodução, a ampla gama de hospedeiros e a capacidade de reproduzir-se em plantas com resistência a outras espécies do gênero (RODRIGUEZ *et. al.*, 2007). Já o *M. incognita* é um dos nematoides mais devastadores do mundo prejudiciais tanto na agricultura quanto na horticultura, devido à sua alta frequência e capacidade de infectar quase todas as espécies de plantas cultivadas (RUTTER *et. al.*, 2014).

Existem poucos trabalhos explorando a interação entre fitonematoides e, ainda mais raros, trabalhos que avaliam a interação entre dois fitonematoides de mesmo gênero. Também pouco se sabe sobre a reação de plantas quando parasitadas simultaneamente por dois nematoides do mesmo gênero, como também pouco se conhece do comportamento de nematoides que competem pelo mesmo

hospedeiro.

Tendo em vista o exposto, objetivou-se neste estudo avaliar os efeitos resultantes de infecção simples e da infecção combinada de *M. incognita* e *M. enterolobii* sobre as cultivares de tomate 'Carolina', bem como, avaliar a resistência do repolho 'Chato de Quintal' aos referidos nematoides.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura do tomate

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) tem sua origem na região da Cordilheira dos Andes do norte do Chile, passando por Peru, Bolívia e Equador (HORINO *et. al.*, 1993). No Brasil, o tomate é uma das principais hortaliças cultivadas com cerca de 63 mil hectares de área plantada e produção por volta de 4 milhões de toneladas, com destaque para a região Sudeste com quase metade da produção nacional (IBGE, 2016).

Esta cultura é hospedeira de diversas de espécies de fitonematoides, especialmente os nematoides formadores de galhas do gênero *Meloidogyne*, que têm provocado as maiores perdas de produção a esta cultura no Brasil (FRANZENER *et. al.*, 2007). Plantas atacadas por fitonematoides caracterizam-se por murcha, clorose, redução e deformação do sistema radicular, resultando numa diminuição da produção (TIHOHOD, 1993). Estes sintomas reflexos são típicos da presença de galhas. As espécies predominantes mais comuns pertencem são: *M. incognita* (raças 1 a 4), *M. javanica*, *M. arenaria* Chitwood, 1949, e *M. hapla* Chitwood, 1949, sendo estas duas últimas de ocorrência mais restrita quando comparadas as duas primeiras (EMBRAPA, 2006).

Segundo Carneiro (2006), já existem cultivares híbridas comerciais disponíveis no mercado brasileiro, sendo estas em sua grande maioria portadora do gene *Mi*, que confere resistência à *M. incognita* (raças 1 a 4) e à *M. javanica*. Estas cultivares resistentes a nematoides são obtidas através da introgressão do alelo *Mi* em germoplasma susceptível, ou seja, através de sucessivos retrocruzamentos entre o híbrido e sua original geração progenitora, a exemplo da cultivar 'Nemadoro', originada do cruzamento entre as cultivares 'Rio Grande', suscetível, e 'IPA-3', resistente à *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* (PESSOA *et al.*, 1988). Em um estudo realizado por Rosa *et. al.* (2015), a cultivar de tomate 'Block', incluída no ensaio por ser portadora de gene *Mi*, que confere resistência a outras meloidoginoses, permitiu alto nível de reprodução de *M. enterolobii* com o fator de reprodução quase dez.

2.2 A cultura do repolho

Segundo alguns historiadores, o repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) é uma hortaliça cultivada na Europa desde 5.000 anos a.C., podendo ser considerada uma variedade da couve silvestre (*B. oleracea* var. *silvestris* L.) (JOYCES e TAKEMATSU, 2010).

O repolho, pertencente a ordem Brassicales e família Brassicaceae, apresenta folhas cerosas, arredondadas e com nervuras bastante visíveis, havendo o acúmulo e uma superposição das folhas centrais, há a formação de uma “cabeça” compacta, por isso o título de Capitata (FILGUEIRA, 2000).

Em todo o Brasil, no ano de 2011, estimou-se que a produção de alface e de repolho tenha somado 2,59 milhões de toneladas, em área de 123.580 hectares. O repolho participou com 1,313 milhão de toneladas. Em 2012, as 23 principais Centrais de Abastecimento Brasileiras (Ceasas) comercializaram 522 mil toneladas de hortaliças do subgrupo folha, flor e haste. No total, elas geraram receita de aproximadamente R\$ 2 bilhões, conforme dados do Programa Brasileiro de Modernização do Mercado Hortigranjeiros (Prohort), da Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), sendo o repolho a hortaliça mais vendida com 240 mil toneladas (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTALIÇAS, 2013).

A cultura do repolho não traz grandes limitações fitossanitárias quando comparada a outras olerícolas também exigentes em nutrientes, como tomate (VARGAS, 2009). Dentre as principais pragas limitantes à produção de repolho destaca-se a suscetibilidade a pragas, como pulgão, mosca branca e tripses. Esses insetos sugam a seiva e introduzem toxinas no sistema vascular da planta, enfraquecendo-as (LEITE *et. al.*, 2006).

Segundo Rosa *et. al.* (2015), em um trabalho com olerícolas e plantas usadas em adubação verde com inoculação de *M. enterolobii*, o comportamento de resistência com baixo fator de reprodução foi observado em todas as brássicas estudadas e a ausência de reprodução do nematoide foi constatada em uma cultivar de repolho ‘Chato de Quintal’, que apresentou fator de reprodução igual a zero. Logo, essas plantas constituem uma opção viável para a rotação de culturas em áreas infestadas com o nematoide em questão.

2.3 Fitonematoides

Pertencentes ao filo Nematoda, são animais alongados, pseudocelomados, não possuem sistema respiratório, não possuem sistema circulatório, corpo não segmentado, com simetria bilateral e revestido de cutícula resistente e quitinosa, basicamente aquáticos, embora possam ser encontrados em quase todos os tipos de ambiente, desde que haja pelo menos um filme de água para mantê-los umedecidos. Machos e fêmeas em geral, possuem sua morfologia semelhante, porém existem espécies em que as fêmeas aumentam consideravelmente a largura corporal, como: *Heterodera*, *Globodera*, *Tylenchulus*, *Rotylenchulus* e *Meloidogyne* (FERRAZ *et. al.*, 2010).

As fêmeas se reproduzem por partenogênese, produzindo ovos que dão origem a um juvenil. A maioria dos nematoides são considerados ovíparas, com o desenvolvimento do embrião fora do corpo da fêmea, porém, alguns são ovovivíparos, pois o desenvolvimento embriogênico se dá dentro do ovo no interior da fêmea. Alguns nematoides tem a capacidade de permanecer num estágio de completa inatividade, com metabolismo atuando em um nível reversivelmente baixo. Alguns nematoides formam cistos, ou seja, os ovos permanecem dentro das fêmeas que enrijecem sua cutícula permitindo a sobrevivência destes ovos no solo e impedindo a ação dos métodos de controle, tendo como exemplo o gênero *Heterodera* (MICHEREFF, 2001).

Fitonematoides são parasitas que se encontram amplamente disseminados nas áreas de produção agrícola do Brasil e do mundo e, apesar dos prejuízos que podem ocasionar, muitas vezes, a importância destes patógenos é negligenciada ou conferida a algum outro fator, como deficiência nutricional, tratos culturais inadequados ou déficit hídrico. São de grande importância agrícola, podendo causar prejuízos a diversas culturas. A quantidade de dano causado depende, entre outros fatores, da densidade populacional, da susceptibilidade do hospedeiro e das condições do meio em que vivem (TIHOHOD, 1993)

Durante a alimentação, os nematoides introduzem seu estilete que é um órgão canaliculado, utilizado para penetrar nas paredes celulares das plantas tanto por ação mecânica do estilete pontiagudo, como por ação de enzimas. O nematoide pressiona a região labial contra o hospedeiro e, o estilete é lançado para a frente

podendo estocar algumas células antes de escolher uma para a alimentação. Logo, há a injeção de poderosas enzimas digestivas no interior celular fazendo com que a alimentação fique essencialmente líquida. Então, o conteúdo celular é mecanicamente sugado via estilete pela ação do bulbo mediano do esôfago. Todos os fitonematoides possuem glândulas esofagianas bem desenvolvidas que produzem uma série de enzimas tanto para ação no meio externo, quanto para a digestão de alimentos ingeridos (TIHOHOD, 1993).

Existem quatro grupos que classificam os fitonematoides de acordo com o hábito alimentar estabelecido com a planta: ectoparasitas migradores, ectoparasitas sedentários, endoparasitas migradores e endoparasitas sedentários. Estes nematoides podem apresentar diferentes ações sobre as plantas hospedeiras: ação traumática, provocada por injúrias mecânicas decorrentes do movimento do nematoide no tecido da planta; ação espoliadora, provocada pelo desvio de nutrientes essenciais da planta; e ação tóxica, provocada por toxinas ou enzimas secretadas pelo nematoide e que são prejudiciais à planta (MICHEREFF, 2001).

Muitos nematoides fitoparasitas causam relativamente poucos danos às plantas hospedeiras, sendo bem menor o número de espécies que produzem danos severos e grandes perdas econômicas. Alguns exemplos deste menor grupo são os chamados nematoides das galhas (gênero *Meloidogyne*), os nematoides de cistos (*Heterodera* e *Globodera*), os nematoides das lesões radiculares (*Pratylenchus*) e os nematoides cavernícolas (*Radopholus*) (SBN, 2011). Os fitonematoides mais comuns e mais importantes no Brasil, associados à hortifrutícolas são do grupo dos nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) (SOARES, 2006).

2.4 O gênero *Meloidogyne*

Pertencente a ordem Rhabditida, família Meloidogynidae, o gênero *Meloidogyne* conhecido como nematoide das galhas, é o principal endoparasita sedentário que ocorre no Brasil, sendo considerado o mais importante na agricultura mundial em razão de sua alta disseminação provocando elevadas perdas na produção e comprometer a qualidade dos produtos agrícolas. Contribuem para isso a alta capacidade reprodutiva desses nematoides, o que leva a um rápido crescimento das populações no campo, e o fato de serem espécies perfeitamente

adaptadas às condições edafoclimáticas brasileiras (TIHOHOD, 1993).

O ciclo de vida do nematoide das galhas consiste em 6 estádios fenológicos: ovo, 4 fases juvenis (J1, J2, J3 e J4) e adulto (macho ou fêmea). Os ovos, normalmente no estágio unicelular, são depositados pela fêmea numa massa gelatinosa que os protegem. Nessa massa, que pode chegar a ter o tamanho do corpo da fêmea, podem ser encontrados até mais de 1.000 ovos. O juvenil de primeiro estágio (J1) encontra-se ainda dentro do ovo, alimentando-se de reservas encontradas no próprio ovo e crescendo até que haja a sua primeira troca de cutícula ou ecdise para J2. O juvenil de segundo estágio (J2), fase infectiva, eclode através de um orifício feito na parede da casca do ovo após repetidas estocadas do estilete. Então, este penetra na raiz da planta hospedeira e migra pelo cilindro vascular, via força mecânica do estilete e degradação enzimática da parede celular, para formação do sítio de alimentação, causando o alargamento das células e aumentando as taxas de divisão celular. Após sucessivas ecdises, o juvenil de segundo estágio se diferencia em juvenis de terceiro e quarto estádios (J3 e J4), assumindo uma forma salsichoide. O J4 pode se diferenciar em macho, passando por uma metamorfose, voltando a ser fusiforme e alongado e, em seguida, abandona o hospedeiro. Por outro lado, quando a interação molecular planta-nematoide é favorável, ocorre a diferenciação do J4 em fêmea, com forma globosa, que completa seu ciclo de vida, geralmente em menos de um mês (FERRAZ *et. al.*, 2010; FRAGOSO *et. al.*, 2007; TIHOHOD, 1993).

Este fitonematoide estimula a formação de células gigantes ou células nutridoras multinucleadas especializadas que são usadas como sítios de alimentação. À medida que as células gigantes crescem, o tecido da raiz prolifera, tornando-se visível como tumores ou galhas nas raízes características de infecção por *Meloidogyne* spp. (TIHOHOD, 1993).

Segundo Amorim *et. al.* (2011), os nematoides das galhas possuem como característica o dimorfismo sexual que consiste em diferenças na forma dos corpos de machos fusiformes, e de fêmeas globosas. Reproduzem-se por partenogênese, ou seja, não há cópula e as fêmeas depositam de 200 a 2.000 ovos com indivíduos idênticos a elas em uma massa gelatinosa produzida e liberada pelo ânus. Estes multiplicam-se em escala logarítmica à medida que se passam as gerações (TIHOHOD, 1993).

Os nematoides das galhas estão entre os patógenos mais frequentes nos cultivos protegidos. Podem, inclusive, inviabilizar o cultivo de hortaliças e outras em casas de vegetação. Salvo a autoclavagem do solo que elimina qualquer chance de haver algum fitonematoide no substrato, não se dispunha de outras medidas de manejo de nematoides para a maioria dos cultivos protegidos. Como os solos nessas condições são intensivamente cultivados com culturas hospedeiras, as populações dessas pragas alcançam níveis limitantes. Além disso, as condições ambientais controladas como temperatura e umidade também favorecem o aumento da população dos nematoides, se comparadas às condições de cultivo a campo (SOARES, 2006).

Em geral, os métodos empregados na diagnose de espécies de *Meloidogyne* envolvem a caracterização citogenética, como: método de reprodução, número de cromossomos, tamanho dos cromossomos e sua morfologia geral e a quantidade de DNA por núcleo haploide e diploide. A eletroforese de isoenzimas também é um método bastante empregado na rotina de identificação. Outras técnicas como a análise da configuração perineal, a morfologia da região labial e do estilete de juvenis de segundo estágio, de machos e de fêmeas, podem ainda ser empregadas como informações adicionais. Para a identificação de raças são feitos ensaios utilizando plantas diferenciadoras, distinguindo uma da outra pela sua capacidade de se reproduzir (TIHOHOD, 1993).

As quatro principais espécies do gênero são: *M. arenaria* e *M. hapla*, com menores números de ocorrência em comparação a *M. incognita* e *M. javanica*, sendo as espécies mais importantes por serem amplamente distribuídas, possuírem vasta gama de hospedeiros e por causarem elevados prejuízos na agricultura mundial (TIHOHOD, 1993). Outra espécie que vem ficando cada vez mais em evidência é a *M. enterolobii*, em razão de infecção em goiabeira e de várias outras espécies hortaliças, como berinjela, pimenta tabasco e tomate (SILVA, 2014).

2.4.1 *Meloidogyne incognita*

Meloidogyne incognita juntamente com *M. javanica* são as espécies de nematoides das galhas mais frequentemente encontradas causando danos à cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.), pertencente à família das Solanáceas. Nas

principais regiões de produção, essas duas espécies foram encontradas com frequência de 48 e 37%, respectivamente (CHARCHAR e MOITA, 1997).

Meloidogyne incognita é um dos patógenos de plantas economicamente mais devastadores do mundo, prejudiciais tanto na agricultura quanto na horticultura, e é capaz de infectar quase todas as espécies de plantas cultivadas. Os nematoides das galhas *M. incognita* e *M. javanica* são as espécies mais importantes por serem amplamente distribuídas, possuindo uma vasta gama de hospedeiros e por causarem elevados prejuízos na agricultura mundial principalmente em regiões mais quentes (MOURA, 1996).

São caracteres marcantes do padrão perineal de *M. incognita* o arco dorsal alto e trapezoidal, estrias grossas, ausência de campo lateral, estrias em “V” nas regiões correspondentes aos campos laterais. Os machos desta espécie exibem disco labial proeminente, estilete de 24,1 µm em média, estrias transversais na região labial e lábios submedianos mais rebaixados que nos de *M. enterolobii* (DE ALMEIDA *et. al.*, 2008).

Na identificação pela eletroforese de isoenzimas, os padrões enzimáticos de *M. incognita* podem apresentar o fenótipo I1 com a visualização de uma única banda, enquanto o fenótipo I2 observa-se padrões com duas bandas bem próximas (CARNEIRO *et. al.*, 2000; SILVA, 2014).

2.4.2 *Meloidogyne enterolobii*

A espécie *M. enterolobii* foi descrita pela primeira vez a partir de raízes de uma Fabaceae denominada popularmente como orelha-de-negro (*Enterolobium contortisiliquum* Vell.), na China. Após alguns estudos, foi verificado que *M. enterolobii* e *M. mayaguensis* (RAMMAH; HIRSCHMANN, 1988) que havia sido relatada em raízes de berinjela (*Solanum melongena* L.), tratavam-se da mesma espécie, resultando numa sinonímia entre esses dois nematoides (ROSA *et. al.*, 2015).

No fim da década de 1980, *M. enterolobii* foi descrita pela primeira vez no Brasil, causando grandes perdas na produção em plantios comerciais de goiabeira em Petrolina (PE), Curaçá e Maniçoba (BA) (TORRES *et.al.*, 2005). *Meloidogyne enterolobii* é o fitonematoide de maior importância para a goiabeira no Brasil, tendo

sido responsável por grandes danos na produção agrícola com a erradicação de milhares de hectares dessa cultura, destacando-se os prejuízos ocorridos também na olericultura. Logo, é extremamente necessário o conhecimento de sua gama de hospedeiros para adoção de medidas preventivas e de controle (DE ALMEIDA *et. al.*, 2008; RODRIGUEZ *et. al.*, 2007; ROSA *et. al.*, 2015). Este nematoide está se disseminando cada vez mais, provavelmente, através de mudas infectadas, havendo registro desse nematoide em diversos pomares no Nordeste. Devem ser tomadas medidas urgentes para que essa disseminação seja controlada e haja o impedimento da entrada deste nematoide em áreas ainda indenas, caso contrário a cultura da goiaba, principalmente, estará completamente comprometida (DA SILVA, 2006).

A *M. enterolobii* é uma espécie polífaga, que apresenta, além da goiabeira, vários hospedeiros, incluindo hortaliças, frutíferas, essências florestais, ornamentais e plantas daninhas. Possui alta virulência, com potencial de multiplicação superior a *M. incognita* em cultivares suscetíveis de tomateiro, sendo capaz de vencer a resistência das cultivares 'Block', 'Magnet' e 'Helper M' de tomateiro portadoras do gene Mi, oriundo de um tomateiro selvagem, *L. peruvianum* L. O gene Mi confere às cultivares comerciais resistência às meloidoginoses *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*, porém suscetibilidade a *M. hapla* (MOURA, 1996, ROSA *et. al.*, 2015; WESTERICH *et. al.*, 2011). Em um estudo realizado por Guimarães *et. al.* (2003), foi testado o parasitismo de *M. enterolobii* a diferentes espécies botânicas incluindo os tomateiros 'Santa Cruz' e 'Viradouro', sendo este último portador do gene Mi, além do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) 'IPA-9' e caupi (*Vigna unguiculata* L.) 'IPA-206' e todas essas comportaram-se susceptíveis. O meloeiro (*Cucumis melo* L.) e a melancia (*Citrullus lanatus* L.) 'Crimson Sweet' comportaram-se como bons hospedeiros com fator de reprodução acima de 20 e 25, respectivamente. A sua capacidade para quebrar a resistência de plantas resistentes a outras meloidoginoses torna este fitonematoide muito importante para a agricultura mundial (BITENCOURT e SILVA, 2010). Esses resultados mostram que, caso medidas de exclusão não sejam adotadas imediatamente, esse nematoide poderá se proliferar ainda mais, como no Nordeste brasileiro em que o avanço do *M. enterolobii* está, provavelmente, ligado ao trânsito de mudas de goiabeira infestadas (DA SILVA, 2006).

Na identificação dessa espécie, a observação de padrões enzimáticos é mais seguro, uma vez que a configuração perineal, considerada isoladamente, não permite um diagnóstico conclusivo sobre a identidade da espécie, pois na maioria dos casos a configuração perineal de *M. enterolobii* aproximou-se dos padrões de *M. incognita*. Quanto ao fenótipo isoenzimático, *M. enterolobii* apresentou duas bandas principais e duas secundárias mais tênues, diferindo de *M. incognita* que apresenta apenas uma ou duas bandas (DE ALMEIDA *et. al.*, 2008).

2.5 Interação entre nematoides

São poucos os estudos sobre a reação de plantas quando parasitadas simultaneamente por dois ou mais fitonematoides, seja de mesmo gênero ou não, como também pouco se sabe sobre o tipo de interação entre nematoides que ocupam o mesmo espaço podendo competir ou não pelo mesmo hospedeiro.

Segundo Charchar e Aragão (2005), a infecção simultânea das espécies *M. incognita* raça 1 e *M. javanica* é bastante frequente na cultura da batata cultivada no Distrito Federal, causando perdas de até 100% pela ausência de tubérculos comerciais de boa qualidade. Para casos como este, a medida de controle mais utilizada é a rotação de cultura com gramíneas. Entretanto, esse tipo de rotação nem sempre é eficiente, pois estas são hospedeiras de fitonematoides do gênero *Pratylenchus*, que danificam as plantas pela formação de lesões necróticas.

Ferraz L. (1995) estudou a interação entre *Pratylenchus brachyurus* e *M. javanica* na sojicultura. Neste trabalho, que teve como objetivo de avaliar os efeitos de infestações simples e conjuntas de *P. brachyurus* e *M. javanica*, ambas as espécies conseguiram parasitar a soja e ocorreu antagonismo entre as espécies estudadas em infestações conjuntas em cultivar de soja tida como hospedeira de ambas, com efeitos adversos mais comuns sobre *P. brachyurus* e favoráveis à *M. javanica* variando de acordo com o nível de inóculo inicial.

Em outro trabalho, Herman *et. al.* (1988) também avaliou os efeitos de infestações simples e conjuntas de *P. brachyurus* e *M. incognita*, em níveis populacionais crescentes, sobre diferentes cultivares de soja em casa de vegetação. A interação entre os fitonematoides teve pouco efeito no crescimento da soja e a reprodução de ambas foi suprimida. No entanto, o nematoide das galhas com sua

relação hospedeiro-parasita mais complexa e maior taxa reprodutiva, tornou-se a espécie dominante nessa interação.

Outras combinações de interações entre fitonematoides, incluindo espécies de *Meloidogyne* foram relatadas por Eisenback (1985). Neste estudo também houve combinações iguais aos estudos acima citados diferindo somente quanto às culturas que foram tomate, fumo e algodão. Em tomate, *M. incognita* suprimiu a penetração por *P. brachyurus*, já em algodão, o nematoide das galhas estimulou a penetração do nematoide das lesões. No fumo, *M. incognita* se comportou como antagonista quando a cultivar era suscetível ao patógeno e como estimulador quando a cultivar era resistente.

No mesmo trabalho, Eisenback (1985) também estudou interações com nematoides de mesma espécie. Entre *M. incognita* e *M. javanica* em tomates em casa de vegetação, ambos se comportaram como antagonistas, *M. incognita* dominou em temperaturas mais altas e *M. javanica* dominou em baixas temperaturas. Nos ensaios entre *M. incognita* e *M. hapla*, a primeira sempre dominou as raízes, porém, o nível de dominância variou com a temperatura, sendo mais abundante nas raízes de tomate quando a temperatura era mais alta. Em fumo, *M. incognita* penetrava mais rapidamente que *M. hapla* na planta e ocupava todos os locais de alimentação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido no período de junho a novembro de 2016, sendo desenvolvido em casa de vegetação e Laboratório de Fitopatologia, ambos pertencentes ao setor de Fitossanidade do Departamento de Fitotecnia, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza-CE.

A temperatura da casa de vegetação foi monitorada diariamente, no período da manhã e da tarde, com o auxílio de um termômetro de mercúrio durante todo o período de realização do experimento, registrando variação de $31 \pm 4^\circ\text{C}$.

3.1 Espécies vegetais empregadas no experimento

As espécies vegetais tomate 'Carolina' e repolho 'Chato de Quintal' foram obtidas através de sementes comerciais da empresa Feltrim Sementes distribuídas em bandejas de poliestireno com 128 células, contendo a mistura de solo e esterco caprino, na proporção de 2:1, peneirada e autoclavada durante 50 minutos a 120°C . As bandejas foram mantidas em casa de vegetação e regadas duas vezes ao dia, uma no início da manhã e outra no fim da tarde.

3.2 Obtenção do inóculo

Para a obtenção do inóculo dos nematoides das galhas *M. incognita* e *M. enterolobii*, foram empregadas três espécies vegetais. Para a obtenção de inóculo de *M. incognita* foram utilizadas raízes infectadas de tomate 'Carolina' (*Solanum lycopersicum* L.) e cóleus (*Solenostemon scutellarioides* L.) enquanto que para obtenção de inóculo de *M. enterolobii* foram empregadas raízes de louco (*Plumbago scandens* L.).

A extração de ovos de *M. incognita* e *M. enterolobii* foi realizada seguindo a metodologia de Coolen e D'Herde (1972). Neste método, as raízes foram trituradas em liquidificador com água na presença de hipoclorito de sódio (NaClO) a 0,5% durante 30 segundos. A suspensão obtida foi vertida em peneira de 20 mesh sobre outra peneira de 400 mesh. O material retido na peneira de 400 mesh (pequenos

fragmentos de raiz e nematoides) foi recolhido com o auxílio de uma pisseta e colocado em um becker, adicionando-se cinco gramas de caulim, homogeneizando com o auxílio de um bastão de vidro. Em seguida, a suspensão homogeneizada com o caulim foi colocada em tubos de centrífuga e, com auxílio de uma balança, equilibrou-se o peso. Os tubos foram colocados em uma centrífuga Fanem modelo Excelsa II e centrifugados por cinco minutos a 1.800 rpm. Após a centrifugação, o material sobrenadante foi descartado. Em seguida, foi adicionada sacarose a 45% ressuspensando-se o sedimento com o auxílio de um bastão de vidro. Os tubos, novamente com os pesos equilibrados, foram levados novamente à centrífuga por um tempo de um minuto a 1.800 rpm. O sobrenadante obtido foi vertido em peneira de 400 mesh, sob água corrente para a retirada total da sacarose. Os ovos e juvenis foram recolhidos em becker para que, em seguida, fosse feita a calibração em câmara de Peters sob microscópio estereoscópico para posterior inoculação. As suspensões foram ajustadas de forma a se obter 3.000 ovos por mL.

3.3 Inoculação das plantas

Ao atingirem o estágio de quatro folhas, as plântulas de tomate 'Carolina' e do repolho 'Chato de Quintal' foram transplantadas para vasos com capacidade de dois litros contendo o mesmo substrato autoclavado. O tomate 'Carolina' foi empregado em razão de sua conhecida suscetibilidade a ambos os patógenos e o repolho 'Chato de quintal' por sua conhecida resistência à *M. enterolobii*.

O ensaio consistiu de inoculações individuais com cada espécie, *M. incognita* ou *M. enterolobii*, como também de inoculações mistas, contudo intercaladas com um intervalo de 10 dias entre as espécies e de inoculações simultâneas com os dois nematoides.

Para as inoculações simples e mistas, realizadas cinco dias após o transplântio, foram feitos dois orifícios no solo com o auxílio de um bastão de vidro em uma profundidade de 3 cm, próximo ao colo da planta. Com uma pipeta automática de 500 µL, os dois orifícios foram preenchidos com suspensão contendo 3.000 ovos de *M. incognita* ou de *M. enterolobii*, variando de acordo com cada tratamento. Após a deposição do inóculo, os orifícios foram preenchidos com o próprio substrato. Nos casos de infecção mista, a segunda inoculação foi realizada

dez dias após a primeira utilizando-se a mesma metodologia anterior. Na inoculação simultânea, foram feitos quatro orifícios próximos ao colo da planta, sendo dois orifícios utilizados com suspensão contendo 3.000 ovos de *M. incognita* e dois orifícios com a mesma quantidade de ovos de *M. enterolobii*, totalizando 6.000 ovos por planta.

3.4 Delineamento experimental

Constituíram-se nove tratamentos (Figura 1), com sete repetições para tomateiro e quatro para repolho dispostas em delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos foram os seguintes:

- 1 = Tomate 'Carolina' inoculado com *M. incognita* (Mi);
- 2 = Tomate 'Carolina' inoculado com *M. enterolobii* (Me);
- 3 = Tomate 'Carolina' inoculado com *M. incognita* e após 10 dias inoculado com *M. enterolobii* (Mi-Me);
- 4 = Tomate 'Carolina' inoculado com *M. enterolobii* e após 10 dias inoculado com *M. incognita* (Me-Mi);
- 5 = Tomate 'Carolina' com inoculação simultânea de *M. incognita* e *M. enterolobii* (Mi+Me);
- 6 = Repolho 'Chato de Quintal' inoculado com *M. incognita* (Mi);
- 7 = Repolho 'Chato de Quintal' inoculado com *M. enterolobii* (Me);
- 8 = Repolho 'Chato de Quintal' sem inoculação;
- 9 = Tomate 'Carolina' sem inoculação.

3.5 Avaliação final

3.5.1 Número de galhas, índice de massas de ovos e fator de reprodução

Após 45 dias da inoculação, as plantas foram cuidadosamente removidas dos vasos e as raízes lavadas para a remoção de material orgânico e substrato aderido a elas.

Com o auxílio de um microscópio estereoscópico, as raízes de tomateiros foram analisadas quanto ao número de galhas (NG) e número de massa de ovos

(NMO). Para o repolho, na avaliação das raízes foram considerados o NG, NMO e o índice de massas de ovos (IMO). Para a determinação do NG, NMO e do IMO, empregou-se a média da contagem das duas variáveis nas respectivas espécies. Estas variáveis foram calculadas empregando-se uma escala proposta por Taylor e Sasser (1978) (Tabela 1).

Figura 1. Tratamentos de tomate ‘Carolina’ e repolho ‘Chato de Quintal’ inoculados com *Meloidogyne incognita* e *M. enterolobii*.



Fonte: CAFÉ, 2016.

1) Inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita*; 2) inoculação de 3.000 ovos de *M. enterolobii*; 3) inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita* e, após 10 dias, inoculação de 3.000 ovos de *M. enterolobii*; 4) inoculação de 3.000 ovos *M. enterolobii* e, após 10 dias, inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita*; 5) inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita* seguida de inoculação de 3.000 ovos de *M. enterolobii*; 6) inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita*; 7) inoculação de 3.000 ovos de *M. enterolobii*; 8) Muda sem inoculação; 9) Muda sem inoculação.

Em seguida, todos os oito sistemas radiculares de repolho ‘Chato de

Quintal' e 11 dos sistemas radiculares de tomateiros foram individualmente processados segundo o método de Coolen e D'Herde (1972), acima citado e os outros 11 sistemas radiculares de tomateiro foram corados com fucsina ácida por sete minutos. Posteriormente, dessas 11 amostras foram retiradas todas as massas de ovos coradas e colocadas em um becker com 20 ml de água na presença de hipoclorito de sódio sob agitação para dissolver a massa gelatinosa e liberar os ovos. Estas metodologias foram utilizadas para a determinação do fator de reprodução (FR), o qual é calculado pela razão entre a população final (Pf) e a população inicial (Pi). As espécies vegetais são classificadas com imunes, se $FR = 0$, como resistentes se $FR < 1$ e como suscetíveis se $FR > 1$, conforme Oostenbrink (1966).

$$FR = \frac{Pf}{Pi}$$

Tabela 1 - Classificação quanto à suscetibilidade das plantas de acordo com o número de massas de ovos (Taylor e Sasser (1978)) modificado por Hadisoeganda e Sasser (1982).

Número massas de ovos ou galhas	Escala de notas	IMO	Classificação das plantas
0	0	0,0-1,0	Altamente resistente (AR)
1-2	1	1,1-3,0	Muito resistente (MR)
3-10	2	3,1-3,5	Moderadamente resistente (MOR)
11-30	3	3,6-4,0	Ligeiramente resistente (LR)
31-100	4	4,1-5,0	Suscetível (S)
>100	5	-	-

3.5.2 Determinação das espécies de *Meloidogyne* presentes nas raízes

Para determinar qual a espécie de *Meloidogyne* dominante nas infecções mistas empregou-se a técnica de eletroforese de isoenzimas adotando-se o método descontínuo de eletroforese vertical em géis de poliacrilamida. Fêmeas com o aspecto branco-leitosa, foram individualmente transferidas para microtubos

(Eppendorf) de 1,5 ml contendo 15 µL de solução extratora 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.

As fêmeas foram retiradas de várias partes de um mesmo sistema radicular. O número de fêmeas (NF) retiradas se deu através de uma metodologia própria baseada na equação abaixo, onde NMO é o número de massa de ovos visíveis na raiz. A fórmula abaixo permite a obtenção da maioria de fêmeas presentes na raiz, considerando o número total de massas de ovos.

$$NF = \frac{NMO}{2} + 1$$

O número de fêmeas retiradas das plantas do tratamento 1 (Mi) foi de 12, do tratamento 2 (Me) foi de 09, do tratamento 3 (Mi-Me) foi de 42, do tratamento 4 (Me-Mi) foi de 71 e do tratamento 5 (Mi+Me) foi de 73 fêmeas. Incluindo as 18 fêmeas de *M. javanica* (padrão) e de *M. konaensis* (padrão alternativo) o número total empregado nessa análise foi de 225 indivíduos.

Para a eletroforese, o gel de corrida foi preparado na concentração de 7,5 % (2,5 mL de bis-acrilamida, 1,88 mL de tris-HCl (pH 8,8), 45 µL de persulfato de amônio, 11 µL de temed e 5,75 mL de água destilada) e levado à estufa a 37°C por 40 minutos para polimerizar. Em seguida, o gel de empilhamento foi preparado na concentração de 4% (500 µL de bis-acrilamida, 1,25 mL de tris-HCl (pH 6,8), 45 µL de persulfato de amônio, 11 µL de temed e 3,10 mL de água destilada). Um pente de teflon foi introduzido no gel de empilhamento para a obtenção de 12 poços e, após sua polimerização em estufa a 37°C por 60 minutos, o mesmo foi retirado formando as cavidades no gel para distribuição das amostras. Na cuba com a solução tampão de corrida, foram adicionados nas cavidades desse gel 10 µL da extração de proteínas obtidas das fêmeas individualmente maceradas. A amostra padrão consistiu de extratos proteicos das espécies *M. javanica* e, ocasionalmente, de *M. konaensis* em razão da semelhança desta com os padrões de esterase de *M. javanica*. Essas amostras foram distribuídas em pelo menos uma das cavidades de cada gel. A eletroforese foi conduzida inicialmente, sob voltagem constante de 80 V na corrida de empilhamento (30-40 minutos) e, posteriormente, a 200 V para a etapa

de separação no gel de corrida (40-60 minutos). A corrida foi realizada a 4°C no interior de um refrigerador e ao seu final os géis foram retirados das placas e levados para um recipiente de vidro contendo solução reveladora para a enzima esterase (100 mL de solução tampão fosfato, 100 mg de Fast Blue RR Salt e 4,5 mL de α -naftilacetato 1%). Nessa solução os géis ficaram incubados no escuro, em estufa a 37°C, por 40 minutos. Após a revelação, os géis foram transferidos para uma solução fixativa (45 ml de metanol, 9 ml de ácido acético e 45 ml de água destilada) em estufa a 37°C por 40 minutos.

Após corar, o gel foi colocado entre duas folhas de papel-celofane umedecidas com água destilada e presas em um bastidor de madeira apoiado sobre um disco de isopor com espessura igual à espessura do bastidor. Foram feitas perfurações com a ponta de um escarificador no papel-celofane, às margens do gel para facilitar a evaporação da água. Após a secagem em temperatura ambiente, os perfis isoenzimáticos de *M. incognita* e *M. enterolobii* foram interpretados segundo Almeida (2008). Retiraram-se mais de 200 fêmeas das raízes dos tomateiros com infecção mista e dos controles positivos, preparando-se 19 géis para a avaliação da espécie dominante nos ensaios.

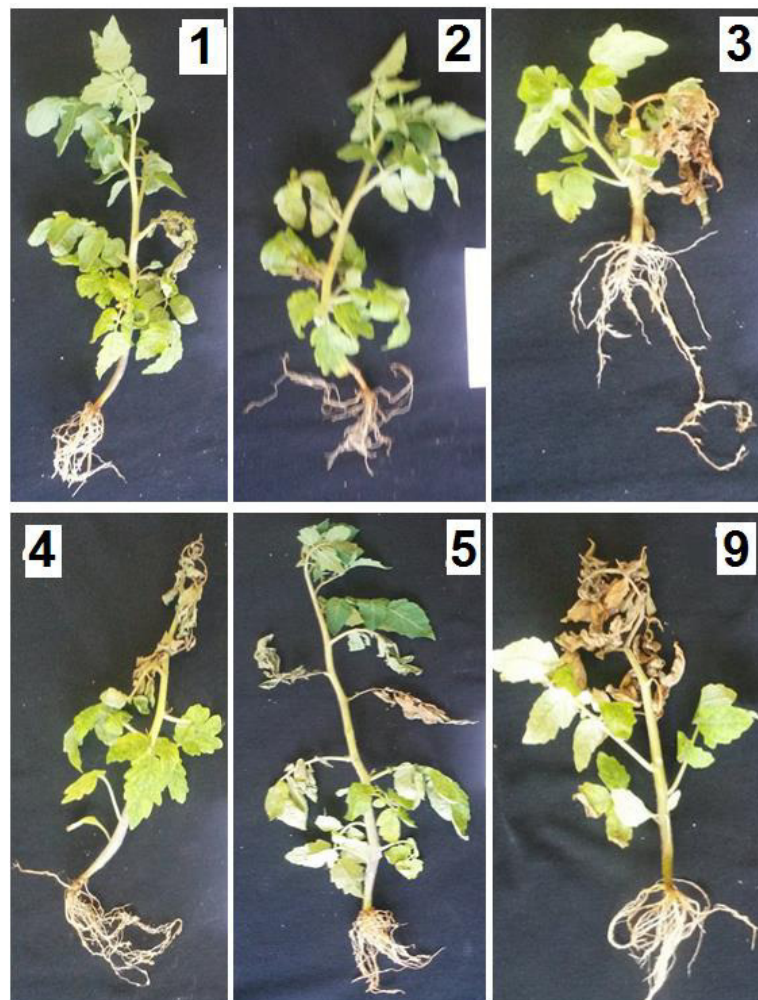
3.5.3 Procedimentos estatísticos

Todos os dados de número de galhas, índice de massas de ovos e fator de reprodução foram transformados em $(x + k)^{1/2}$ e analisados estatisticamente através dos testes F e Tukey, com o auxílio do programa SASM-Agri desenvolvido por Canteri *et. al.* (2001).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período em que o experimento foi conduzido, alguns fatores afetaram negativamente o desenvolvimento das plantas. Um deles foi a exposição direta das plantas ao sol, causando uma maior evapotranspiração, contribuindo para reduzir o crescimento e provocar necrose de folhas, dado o maior estresse das mesmas (Figura 2). Em razão disso, algumas parcelas de tomateiro foram perdidas, tanto dos tratamentos, inicialmente com sete repetições, como das testemunhas.

Figura 2. Tomateiros ‘Carolina’ 45 dias após inoculação com *M. incognita* e *M. enterolobii*



Fonte: CAFÉ, 2016.

1) Inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita*; 2) inoculação de 3.000 ovos de *M. enterolobii*; 3) inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita* e, após 10 dias, inoculação de 3.000 ovos de *M. enterolobii*; 4) inoculação de 3.000 ovos *M. enterolobii* e, após 10 dias, inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita*; 5) inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita* seguida de inoculação de 3.000 ovos de *M. enterolobii*; 9) muda sem inoculação.

4.1 Número de galhas, número de massa de ovos e fator de reprodução em tomateiros

Os resultados apresentados na Tabela 2 mostram que não houve diferença significativa no número de galhas (NG) e no número de massa de ovos (NMO) entre os tratamentos com inoculação mista e os controles positivos, ou seja, a reação da planta foi semelhante em todas as combinações apesar do inóculo das plantas com infecção mista ter sido o dobro em relação ao inóculo das plantas com infecção simples. Com base nessas variáveis, não teria havido interação entre os nematoides, uma vez que o efeito da infecção mista não foi superior (interação positiva ou sinergismo) nem inferior (interação negativa ou antagonismo), conforme definição adotada por Wallace (1983).

Tabela 2. Médias dos valores do número de galhas (NG), número médio de massas de ovos (NMO) dos seis tratamentos de tomateiros com infecção simples ou mista de *M. incognita* e *M. enterolobii*.

Tratamento	NG	NMO
1 (Mi)	23 a	6,25 a
2 (Me)	30,33 a	14,33 a
3 (Mi-Me)	27 a	9,8 a
4 (Me-Mi)	36 a	18,2 a
5 (Mi+Me)	40,8 a	16,6 a

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Dados transformados em " $(x+k)^{1/2}$ " com $k = 1$

1) inoculação simples de 3.000 ovos de *M. incognita* (Mi); 2) inoculação simples de 3.000 ovos de *M. enterolobii* (Me); 3) inoculação mista de 3.000 ovos de *M. incognita* e, após 10 dias, inoculação de 3.000 ovos de *M. enterolobii* (Mi-Me); 4) inoculação de 3.000 ovos *M. enterolobii* e, após 10 dias, inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita* (Me-Mi); 5) inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita* e de *M. enterolobii* no mesmo dia (Mi+Me).

Existem poucos estudos que abordam algum tipo de interação entre espécies de *Meloidogyne* em infecção simultânea em tomateiro. Nestes poucos trabalhos, essas variáveis (NG, NMO) não são comentadas. Como exemplo podem ser citadas as interações entre *M. javanica* e *M. incognita* e de *M. hapla* e *M. javanica*, em que os autores, em semelhante análise, consideram ter havido efeito

antagônico entre as espécies (MINZ E STRICH-HARARI *apud* EISENBACK, 1985; KINLOCH E ALLEN, 1972).

Em outros estudos envolvendo diferentes cultivares de tomateiro, o número de galhas e o de massas de ovos foram mais elevados que os observados neste ensaio. Guimarães *et. al.* (2003) relataram que em tomateiros ‘Santa Cruz’ e ‘Viradoro’ inoculados com 4.000 ovos de *M. enterolobii* o número de galhas e de massa de ovos foi superior a 100, após 45 dias da inoculação. Rosa *et. al.* (2015) trabalhando com tomateiros ‘Rutgers’ e ‘Block’ inoculados com 5.000 ovos *M. enterolobii* também encontraram valores médios acima de 100 para ambas as variáveis. Nesses dois trabalhos, porém, o número de ovos do inóculo foi superior ao empregado nesse ensaio para as infecções simples.

Em estudo com tomateiros ‘Santa Cruz Kada’ inoculados com 5.000 ovos de *M. incognita*, em condições de casa de vegetação, Nasu *et. al.* (2010) relataram 231 galhas, após 60 dias da inoculação. Silva *et. al.* (2002), também em tomateiros ‘Santa Cruz Kada’ inoculados com 5.000 ovos, relataram valores maiores que 100 tanto para o número de galhas, quanto para o número de massas de ovos, em mudas avaliadas 45 dias após a inoculação.

Quanto ao FR, os resultados apresentados na Tabela 3 mostram que houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo o tratamento 2, controle positivo com apenas *M. enterolobii*, o que apresentou o maior valor absoluto. O FR dos dois controles positivos foi estatisticamente igual. O FR do tratamento 1, controle positivo com *M. incognita*, não diferiu dos tratamentos 3 e 5 com infecção mista. Esses dois tratamentos, juntamente com o tratamento 4, ou seja, as inoculações com os dois nematoides, independente da ordem de inoculação, não diferiram estatisticamente entre si.

Tomateiros ‘Block’ e ‘Rutgers’ inoculados com *M. enterolobii*, em um ensaio de Rosa *et. al.* (2015), apresentaram FR de 9,81 e 48,21, respectivamente, ao serem avaliados 60 dias após a inoculação. Guimarães *et. al.* (2003) obtiveram FR por volta de 30 em tomateiros ‘Santa Cruz’ e ‘Viradoro’ inoculados com *M. enterolobii*, avaliados 45 dias após a inoculação. Charchar e Aragão (2005) realizaram um ensaio com dez cultivares de tomateiro em solos infestados com uma mistura populacional de *M. incognita* e *M. javanica* em casa de vegetação. Após 120 dias da inoculação, foi calculado um valor médio do FR para as dez cultivares de

28,2, com destaque para a cultivar 'Akafuku' com FR igual a 60,7.

Tabela 3. Médias dos valores de populações inicial (Pi) e final (Pf) e fator de reprodução (FR) dos seis tratamentos em tomateiros com infecção simples ou mista de *M. incognita* e *M. enterolobii*.

Tratamento	Pi	Pf	FR
1 (Mi)	3.000	3.726,7	1,24 ab
2 (Me)	3.000	5.040	1,68 a
3 (Mi-Me)	6.000	897,33	0,15 bc
4 (Me-Mi)	6.000	466,67	0,08 c
5 (Mi+Me)	6.000	1.492	0,25 bc

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Dados transformados em " $(x+k)^{1/2}$ " com $k = 1$.

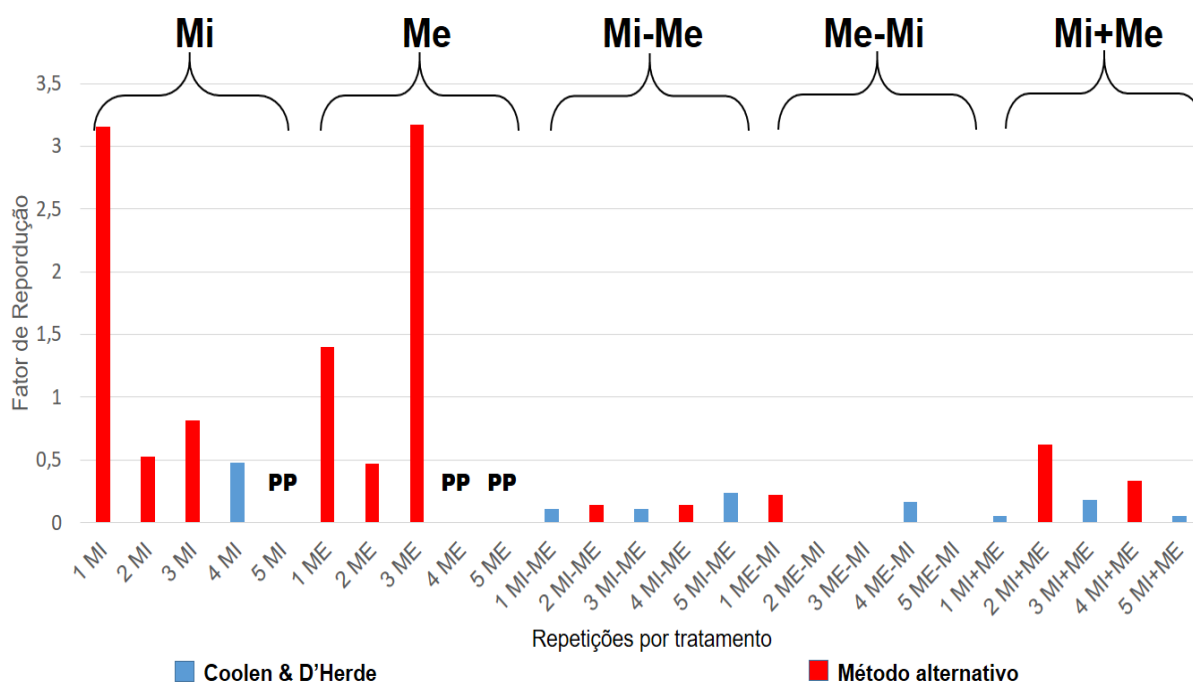
1) inoculação simples de 3.000 ovos de *M. incognita* (Mi); 2) inoculação simples de 3.000 ovos de *M. enterolobii* (Me); 3) inoculação mista de 3.000 ovos de *M. incognita* e, após 10 dias, inoculação de 3.000 ovos de *M. enterolobii* (Mi-Me); 4) inoculação de 3.000 ovos *M. enterolobii* e, após 10 dias, inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita* (Me-Mi); 5) inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita* e de *M. enterolobii* no mesmo dia (Mi+Me).

Para justificar a grande diferença entre os valores de FR obtidos neste trabalho e os valores encontrados na literatura, deve-se levar em consideração o fato das raízes de plantas dos tratamentos com infecção mista terem sido excessivamente escarificadas para a retirada de fêmeas para a determinação da espécie predominante, prioridade do ensaio, através da técnica de eletroforese. Nesse momento, pode ter havido perdas de massas de ovos pelo frequente manuseio das raízes.

Ao constatar valores baixos no FR e para evitar perdas adicionais de ovos nas raízes restantes, optou-se por uma extração de ovos mais criteriosa em que todas as massas visíveis seriam trituradas, não mais em liquidificador, mas juntas em becker com água e NaClO (Método alternativo).

Assim, obteve-se um pequeno aumento no número de ovos e, conseqüentemente, um maior FR no método alternativo, como mostra o Gráfico 1. O FR dos tratamentos 1 e 2 foi um pouco superior aos demais tratamentos devido as suas raízes terem sido um pouco menos escarificadas, pois estes tratamentos foram realizados apenas para o controle do inóculo.

Gráfico 1. Valores do fator de reprodução em tomateiro individualizados por parcela e discriminado de acordo com a metodologia de extração de ovos.



Fonte: CAFÉ, 2016.

Mi= inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita*; Me= inoculação de 3.000 ovos de *M. enterolobii*; Mi-Me = inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita* e, após 10 dias, inoculação de 3.000 ovos de *M. enterolobii*; Me-Mi= inoculação de 3.000 ovos *M. enterolobii* e, após 10 dias, inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita*; Mi+Me = inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita* seguida de inoculação de 3.000 ovos de *M. enterolobii*. PP= parcelas perdidas durante o desenvolvimento do experimento.

4.2 Número de galhas, índice de massa de ovos e fator de reprodução em repolho

Os resultados apresentados na Tabela 4 mostram que o repolho inoculados separadamente com *M. incognita* e *M. enterolobii* (Figura 3), apresentaram comportamentos distintos quanto ao número de galhas, diferindo significativamente entre si. A espécie *M. incognita* induziu maior número de galhas no repolho o qual, segundo Taylor e Sasser (1978), seria classificado como ligeiramente resistente. Já o repolho inoculado com *M. enterolobii*, apresentou menor número de galhas, comportando-se como moderadamente resistente.

Quanto ao índice de massas de ovos, os repolhos inoculados com cada uma das espécies do nematoide não diferiram estatisticamente entre si, com o repolho se comportando, em ambos os casos, como moderadamente resistentes,

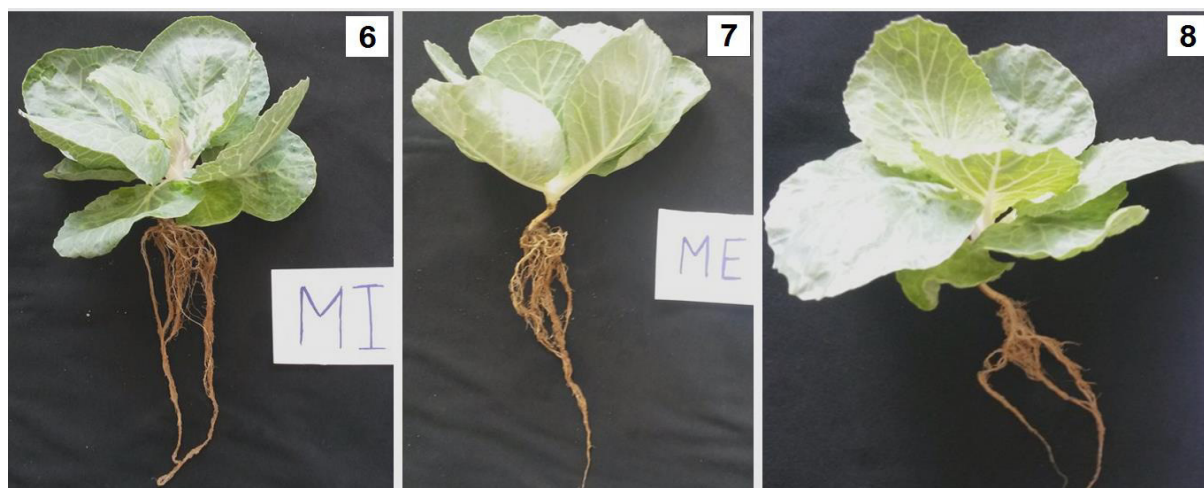
segundo a escala de Taylor e Sasser (1978).

Tabela 4. Médias dos valores do número de galhas (NG), número médio de massa de ovos (NMO), índice de massa de ovos (IMO) e fator de reprodução (FR) dos dois tratamentos de repolho ‘Chato de Quintal’ com infecção simples de *M. incognita* e *M. enterolobii*.

Tratamento	NG	NMO	IMO	FR
6(Mi)	20,5 a	5 a	2a	0,31 a
7(Me)	9 b	3 a	1,75a	0,28 b

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Dados transformados em $(x+k)^{1/2}$ com $k = 1$.

Figura 3. Repolho ‘Chato de Quintal’ 45 dias após inoculação com *M. incognita* e *M. enterolobii*.



Fonte: CAFÉ, 2016.

6) Inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita*; 7) inoculação de 3.000 ovos de *M. enterolobii*; 8) Muda sem inoculação (controle negativo).

Na variável fator de reprodução, obteve-se $FR < 1$ em ambos os casos. Segundo os critérios de Oostenbrink (1966), plantas com esse comportamento são denominadas resistentes.

Segundo Rosa *et. al.* (2015), em um trabalho conduzido no setor de Defesa Fitossanitária do Departamento de Proteção Vegetal (UNESP) no estado de São Paulo, o repolho ‘Chato de Quintal’ inoculado com *M. enterolobii* apresentou, após 60 dias, um número médio de galhas de 1,7 e o índice de massas de ovos e o FR iguais a zero, sendo classificado, pelos autores do artigo, como imune. Esses resultados, porém, diferem do obtido neste trabalho em que o FR foi maior que zero. Vale ressaltar as diferenças de condições ambientais, pois o ensaio conduzido em

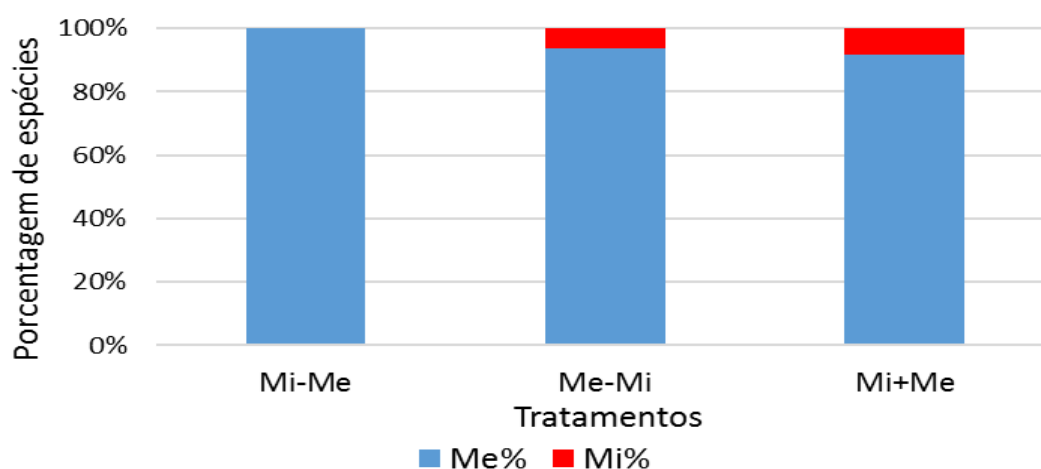
São Paulo em casa de vegetação climatizada a temperatura foi $25 \pm 2^\circ\text{C}$, enquanto que nas nossas condições a temperatura variou de $31 \pm 4^\circ\text{C}$.

O repolho 'Chato de Quintal' foi confirmado como resistente a *M. enterolobii*, razão da inclusão neste ensaio, e constatado como resistente também a *M. incognita*.

4.3 Determinação da espécie de *Meloidogyne* dominante nas raízes de tomateiro

O resultado da análise dos 19 géis, com um total de 225 fêmeas, submetidos a eletroforese está apresentado no Gráfico 2. Observa-se a predominância (>90%) da espécie *M. enterolobii* nos tomateiros 'Carolina' inoculados com ambos os patógenos, independente da ordem da inoculação. O tratamento que foi inoculado primeiramente com *M. incognita* e, após 10 dias, *M. enterolobii* não foi encontrada nenhuma fêmea de *M. incognita*, totalizando 100% das fêmeas para *M. enterolobii*. Já o tratamento inoculado primeiramente com *M. enterolobii* e, após 10 dias, *M. incognita* apresentou 6,12% das fêmeas como *M. incognita*, conseqüentemente, 93,88% das fêmeas eram de *M. enterolobii*. O tratamento com inoculação simultânea de ambos os patógenos apresentou 8,16% de fêmeas de *M. incognita* e 91,84% de *M. enterolobii*.

Gráfico 2. Porcentagem de fêmeas de *M. incognita* (Mi) e *M. enterolobii* (Me) presentes nos sistemas radiculares de tomateiros discriminado por tratamento.



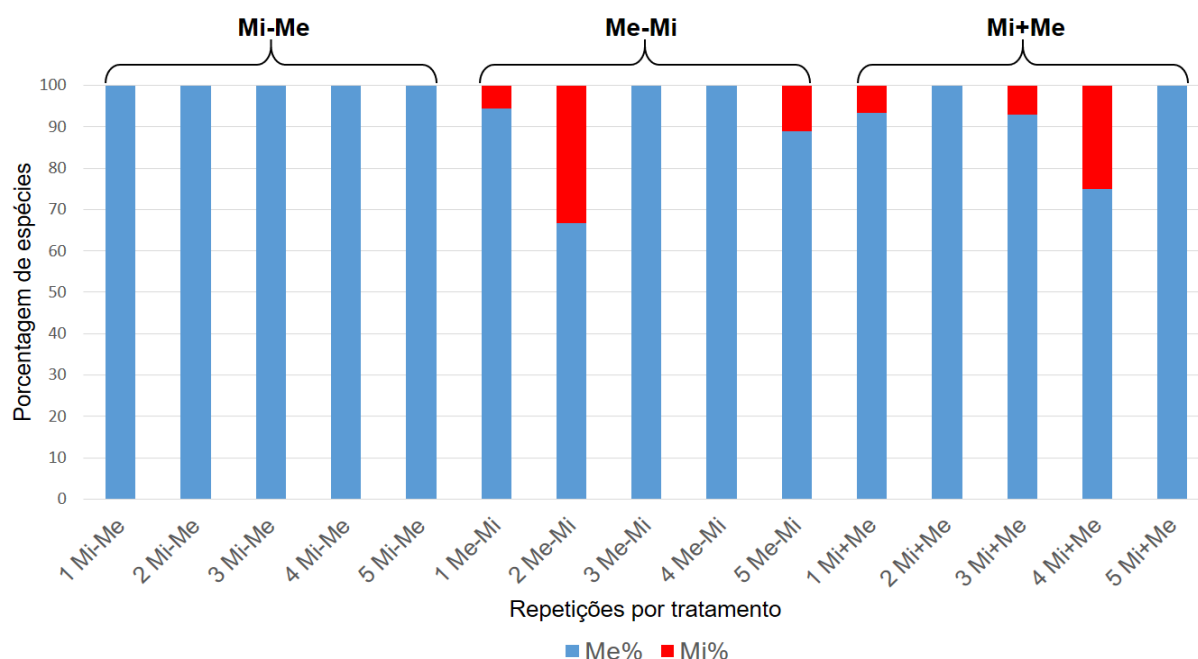
Fonte: CAFÉ, 2016.

Mi-Me= inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita* e, após 10 dias, inoculação de 3.000 ovos de *M.*

enterolobii; Me-Mi= inoculação de 3.000 ovos *M. enterolobii* e, após 10 dias, inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita*; Mi+Me= inoculação simultânea de 3.000 ovos de *M. incognita* e de 3.000 ovos de *M. enterolobii*.

O Gráfico 3 mostra a porcentagem de fêmeas de cada espécie por repetição dentro de cada tratamento. Observou-se que, com base nos fenótipos de esterase visíveis nos géis (>80% dos casos), no tratamento 3 (Mi-Me), as fêmeas retiradas das raízes das cinco plantas eram todas de *M. enterolobii*. No tratamento 4 (Me-Mi) o percentual de *M. incognita* nas raízes variou de 5,6 a 33,3% em três das plantas. Nas outras duas plantas, as fêmeas retiradas eram 100% de *M. enterolobii*. No tratamento 5 (Mi+Me), a variação no percentual de fêmeas de *M. incognita* foi de 6,7 a 25% em três das cinco plantas testadas. Nas demais plantas não foi constatada a presença de *M. incognita*.

Gráfico 3. Porcentagem de fêmeas de *M. incognita* e *M. enterolobii* presentes nos sistemas radiculares de tomateiro discriminado por tratamentos.



Fonte: CAFÉ, 2016.

Mi-Me= inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita* e, após 10 dias, inoculação de 3.000 ovos de *M. enterolobii*; Me-Mi= inoculação de 3.000 ovos *M. enterolobii* e, após 10 dias, inoculação de 3.000 ovos de *M. incognita*; Mi+Me= inoculação simultânea de 3.000 ovos de *M. incognita* e de 3.000 ovos de *M. enterolobii*.

Vale ressaltar que, em valores absolutos, apenas em uma das plantas do

tratamento 5 na planta 24 apareceu o maior número de fêmeas (02) de *M. incognita*. Em todos os outros tratamentos em que apareceram bandas de esterase referentes a *M. incognita*, o número máximo foi de uma (01) fêmea.

Em todos os géis, as bandas de esterase confirmaram a identificação dos dois fenótipos de *Meloidogyne*, com *M. enterolobii* apresentando duas bandas principais e duas secundárias, característica da espécie (M2), diferindo do fenótipo de *M. incognita* que apresentava apenas duas bandas, uma mais forte e outra tênue (I2).

Na Figura 4, nos géis A e B, referentes ao tratamento 3 (Mi-Me), constatou-se que as fêmeas coletadas de raízes das plantas com inoculação combinada eram 100% da espécie *M. enterolobii*. No primeiro poço foi depositada amostra de fêmea retirada do tratamento 1 (Mi).

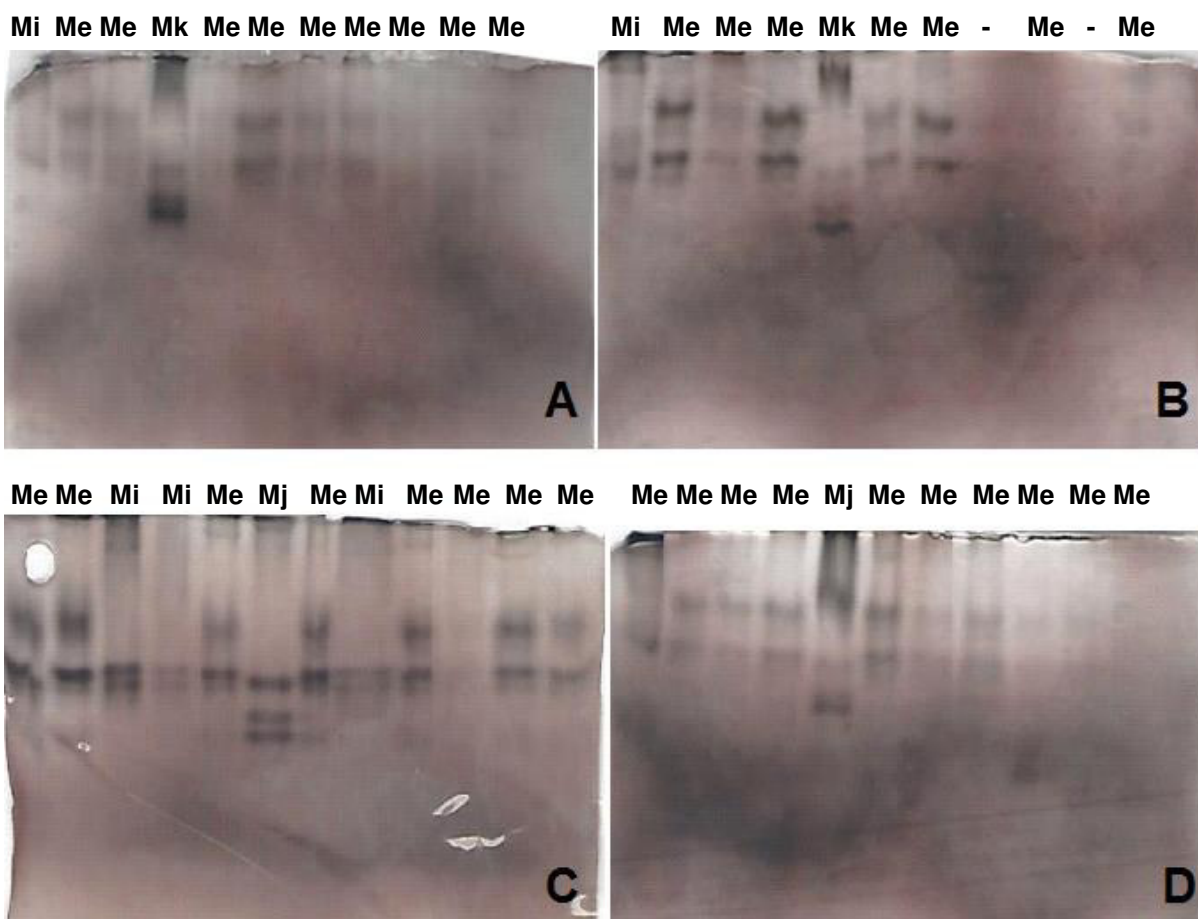
No gel C, referente ao tratamento 5 (Mi+Me), apresentou três poços com o mesmo fenótipo de esterase característico de *M. incognita*. Nos demais poços observou-se somente fenótipo de esterase referente a *M. enterolobii* (70%). No primeiro poço foi depositada amostra de fêmea retirada do tratamento 2 (Me).

O gel D com amostras do tratamento 4 (Me-Mi) revelou 100% de fêmeas de *M. enterolobii* nas amostras coletadas. No primeiro poço foi depositada amostra de fêmea retirada do tratamento 2 (Me).

Na literatura, *M. incognita* é comumente referida como predominante sobre outros fitonematoides, sendo estes de mesmo gênero ou não, em situação de infecção mista. Herman *et. al.* (1988) realizaram um experimento para avaliar a competição entre *M. incognita* e *Pratylenchus brachyurus*, com a superioridade da infestação pelo nematoide das galhas, combinação considerada antagônica. Segundo Eisenback (1985), os endoparasitas sedentários são mais competitivos pela hospedeira que os endoparasitas migradores. Minz e Strich-Harari (1959) *apud* Eisenback (1985) testaram a competição entre *M. javanica*, *M. incognita* e *M. hapla* em infecção mista em tomateiros em ensaios separados. Os autores constataram que *M. javanica* suprimiu tanto *M. incognita* como a *M. hapla* sob baixas temperaturas, porém *M. incognita* predominou sobre as outras duas em ambiente com temperaturas mais altas. De acordo com aqueles autores em geral, a ocorrência de duas espécies de *Meloidogyne* na mesma raiz/galhas sugere que a competição entre ambas seja fraca. Chapman (1965) *apud* Eisenback (1985) investigou o

comportamento de *M. incognita* e *M. hapla* em tomateiro em infecção mista e constatou que *M. incognita* teve efeito antagônico sobre a *M. hapla* com a temperatura influenciando o nível dessa dominância.

Figura 4. Fenótipos de esterase de populações de *M. incognita* e *M. enterolobii* provenientes de raízes de tomateiro 'Carolina' com infecção mista para a determinação da espécie predominante.



Fonte: CAFÉ, 2016.

Mj= amostra padrão de *M. javanica*; Mk = *M. konaensis* (padrão); Mi= *M. incognita*; Me = *M. enterolobii*; gel A e B amostras do tratamento 3 (Mi-Me), gel C amostras do tratamento 5 (Mi+Me); gel D amostras do tratamento 5 (Me-Mi).

Estudos conduzidos por Patel *et. al.* (1991) em plantas de fumo (*Nicotiana tabacum*) inoculadas com combinações de *M. incognita* e *Rotylenchulus reniformis* e de *M. javanica* e *R. reniformis*, em combinações bem semelhantes àquelas empregadas neste trabalho ((Mi-Rr), (Rr-Mi), (Mi+Rr), (Mj-Rr), (Rr-Mj), (Mj+Rr)) os autores constataram que ambas as espécies de *Meloidogyne* suprimiram a reprodução do nematoide reniforme e praticamente triplicaram sua taxa de

reprodução, independente da ordem da inoculação dos nematoides. A competição entre fitonematoides é mais severa entre espécies que possuem semelhantes hábitos ou que disputam pelos mesmos sítios de alimentação, ressaltando-se ainda que os endoparasitas sedentários são mais competitivos que os ectoparasitas sedentários (Eisenback, 1985).

Avaliações de interações de *M. enterolobii* em tomateiro, ou mesmo em outras culturas, com outras espécies de *Meloidogyne* não têm sido relatadas no Brasil. Ainda que haja registros de que *M. incognita* tem sido predominante nas infecções mistas com outras espécies de fitonematoides, principalmente em ambiente de temperaturas mais elevadas, na combinação com *M. enterolobii* em tomateiro não foi esse o comportamento constatado. Verificou-se, neste trabalho realizado em ambiente com temperaturas de $31 \pm 4^\circ\text{C}$ que as populações dos nematoides nas plantas inoculadas com as duas espécies separadamente não foram afetadas, sugerindo um ambiente adequado aos ensaios. Por meio das análises eletroforéticas, constatou-se que as fêmeas de *M. enterolobii* predominaram sobre *M. incognita*, ainda que não tenha sido confirmado o aumento da sua população nas raízes dos tomateiros. Esse predomínio de *M. enterolobii* está de acordo com as informações de sua maior agressividade em olerícolas relatadas por alguns autores (CHARCHAR e MOITA, 1997; RODRIGUEZ *et. al.*, 2007; ROSA *et. al.*, 2015).

De acordo com Eisenback (1985), na natureza raramente ocorrem populações monoespecíficas nas plantas parasitadas por nematoides. Desta forma, é possível supor que em condições de campo, onde não há manipulação de raízes, numa infecção mista de *M. enterolobii* e *M. incognita*, a ocorrência de maior número de fêmeas de *M. enterolobii* represente uma maior população da mesma, causando algum efeito antagônico sobre a espécie concorrente.

5 CONCLUSÃO

A espécie *Meloidogyne enterolobii* predominou sobre *M. incognita* em infecções mistas em tomate 'Carolina', independente da ordem da inoculação.

O repolho 'Chato de Quintal' possui alta resistência a *M. enterolobii* e a *M. incognita*.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M. & BERGAMIN FILHO, A. eds. **Manual de Fitopatologia. Volume 1 - Princípios e Conceitos. 4ª Edição.** Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo. 2011. 704p.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTALIÇAS, 2013 / Cleonice de Carvalho ... [et al.]. – Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz. 2013. 88 p.
- BITENCOURT, N.V.; SILVA, G.S. Reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em olerícolas. **Nematologia Brasileira**, v. 34, n. 3, p. 181-183, 2010.
- CANTERI, M.G. et al. SASM-Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v. 1, n. 2, p. 18-24, 2001.
- CARNEIRO, R. G. et al. Reação de gramíneas a *Meloidogyne incognita*, a *M. paranaensis* e a *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 287-291, 2006.
- CARNEIRO, R.M.D.G. et al. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* parasitando plantas de tomate e pimentão resistentes à meloidoginose no estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 81-86, 2006.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A.; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* spp. populations. **Nematology**, v. 2, n. 6, p. 645-654, 2000.
- CHARCHAR, J.M.; ARAGÃO, F.A.S. Reprodução de *Meloidogyne* spp. em cultivares de tomate e pepino sob estufa plástica e campo. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 243-249, 2005.
- CHARCHAR, J.M.; ARAGÃO, F.A.S. Variação anual da população mista de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* em cultivos de batata ' Bintje ' no campo. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 225-231, 2005.
- CHARCHAR, J.M. e MOITA, A.W. Reação de cultivares de batata a uma infestação mista de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 21, n. 1, p. 39-48, 1997.
- DA SILVA, G.S.; SOBRINHO, C.A.; LUCENA, A. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado do Piauí. 2006.
- DE ALMEIDA, E.J. et al. Novos registros sobre *Meloidogyne mayaguensis* no Brasil e estudo morfológico comparativo com *M. incognita*. **Nematologia Brasileira**, p. 236-241, 2008.

EISENBACK, J.D. Interactions among concomitant populations of nematodes. **An advanced treatise on Meloidogyne**, v. 1, p. 193-213, 1985

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2006. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/>. Acesso em: 01/10/2016.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Comunicado Técnico 113: Consorciação De Repolho Com Espécies Aromáticas**. 2011. Disponível em: <http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2011/cot_113.pdf> Acesso em: 24/10/2016.

FERRAZ, L.C.C.B. Interactions between *Pratylenchus brachyurus* and *Meloidogyne javanica* in soybean. **Scientia Agricola**, v. 52, n. 2, p. 305-309, 1995.

FERRAZ, S. *et. al.* **Manejo Sustentável De Fitonematoides**. Viçosa: UFV, p. 71-85, 2010.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo Manual De Olericultura: Agrotecnologia Moderna Na Produção E Comercialização De Hortaliças**. Viçosa: UFV, 2000. 402 p.

FRAGOSO, R. da R. *et al.* Interação molecular planta-nematóide. **Embrapa Cerrados. Documentos**, 2007.

FRANZENER, G. *et. al.* Proteção de tomateiro a *Meloidogyne incognita* pelo extrato aquoso de *Tagetes patula*. **Nematologia Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 27-36, 2007.

GUIMARÃES, L.M.P.; DE MOURA, R.M.; PEDROSA, E.M.R. Parasitismo de *Meloidogyne mayaguensis* em diferentes espécies botânicas. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 139-145, 2003.

HERMAN, M.; HUSSEY, R. S.; BOERMA, H. R. Interactions between *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus brachyurus* on soybean. **Journal of Nematology**, v. 20, n. 1, p. 79, 1988.

HORINO, Y. Título: **A cultura do tomateiro (para mesa)**. Edição: 1993. Fonte/Imprensa: Brasília, DF: EMBRAPA-SPI; EMBRAPA-CNPH, 1993.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. 2016. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf/default.asp?t=1&z=t&o=26&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1>> Acesso em: 01/10/ 2016.

JOYCES, T.; TAKEMATSU, A.P. **Pragas que atacam repolho: alternativas para controle**. 2010. Artigo em Hypertexto. Disponível em:

<http://www.infobibos.com/Artigos/2010_1/repolho/index.htm> Acesso em: 24/10/2016

KINLOCH, R.A.; ALLEN, M. W. Interaction of *Meloidogyne hapla* and *M. javanica* infecting tomato. **Journal of Nematology**, v. 4, n. 1, p. 7, 1972.

LEITE, G.L.D. *et. al.* Whitefly, aphids and thrips attack on cabbage. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 10, p. 1469-1475, 2006.

LUZ, F. J. de F.; OLIVEIRA, J. M. F. de. **Orientações técnicas para o cultivo do repolho em Roraima**. Boa Vista: Embrapa-CPAF/Roraima, 1997. 12p. (Embrapa-CPAF/Roraima. Circular Técnica, 3).

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

MICHEREFF, S.J. Fundamentos de fitopatologia. **Recife, Universidade Federal Rural de Pernambuco**, p. 134-145, 2001.

MOURA, R.M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.4, p.209-245. 1996.

NASU, E.G.C. *et al.* Efeito de manipueira sobre *Meloidogyne incognita* em ensaios in vitro e em tomateiros em casa de vegetação. **Tropical Plants Pathology**, v. 35, p. 32-36, 2010.

OOSTENBRINK, M. *et al.* Major characteristics of the relation between nematodes and plants. **Mededelingen Landbouwhogeschool**, v. 66, p. 1-46, 1966.

PATEL, S. K. *et al.* The interaction between *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *Rotylenchulus reniformis* in tobacco. **Nematologia Mediterranea**, v. 19, n. 1, p. 41-42, 1991.

PESSOA, H.B.S. da V. *et al.* **Nemadoro: Cultivar De Tomate Para Indústria, Resistente Ao Nematóide Das Galhas**. Embrapa-CNPQ.1998.

RODRÍGUEZ, M.G.; GÓMEZ, L.; PETEIRA, B. *Meloidogyne mayaguensis* Rammah y Hirschmann, plaga emergente para la agricultura tropical y subtropical. **Revista de Protección Vegetal**, v. 22, n. 3, p. 183-198, 2007.

ROSA, J.M.O.; WESTERICH, J.N.; WILCKEN, S.R.S. Reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em olerícolas e plantas utilizadas na adubação verde. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 4, p. 826-835, 2015.

- RUTTER, W.B. *et al.* Mining novel effector proteins from the esophageal gland cells of *Meloidogyne incognita*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 27, n. 9, p. 965-974, 2014
- SBN, Sociedade Brasileira de Nematologia - Nematoides fitoparasitas. 2011. Disponível em: <<http://nematologia.com.br/wp-content/uploads/2011/09/nefi.pdf>> Acesso em: 24/10/2016.
- SILVA, G.S.; SOUZA, I.M.R.; CUTRIM, F.A. Efeito da incorporação de sementes trituradas de feijão de porco ao solo sobre o parasitismo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 4, p. 13-14, 2002.
- SILVA, M. do C.L. da. **Identificação e caracterização de espécies de *Meloidogyne* em áreas agrícolas e dispersão de *M. enterolobii* em pomares de goiabeiras no estado do Ceará**. 2014. Tese de Doutorado.
- SOARES, P.L.M. Estudo do controle biológico de fitonematóides com fungos nematófagos. 2006.
- TIHOHOD, D. **Nematologia Agrícola Aplicada**. Funep, 1993.
- TORRES, G.R.C. *et al.* Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado do Ceará. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 105-107, 2005.
- VARGAS, T. de O. Contribuição da raiz e da parte aérea de duas leguminosas de adubação verde na produção do repolho. 2009.
- WALLACE, H.R. Interactions between nematodes and other factors on plants. **Journal of Nematology**, v. 15, n. 2, p. 221, 1983.
- WESTERICH, J.N.; ROSA, J.M.O.; WILCKEN, S.R.S. Comparative study of biology of *Meloidogyne enterolobii* (= *M. mayaguensis*) and *Meloidogyne javanica* in tomatoes with Mi gene. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 1, p. 35-41, 2011.