

Espécies de *Meloidogyne* associadas a vegetais em microrregiões do estado do Ceará¹

Species of *Meloidogyne* associated with vegetables in microregions of the state of Ceará

Maria do Carmo Lopes da Silva², Carmem Dolores Gonzaga Santos^{3*} e Gilson Soares da Silva⁴

RESUMO - O nematoide das galhas, gênero *Meloidogyne*, é considerado o mais importante dentre os fitonematoides em razão das elevadas perdas provocadas em áreas de exploração agrícola em todo o mundo. Identificar as espécies de *Meloidogyne* presentes numa região é uma 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 ocorrem em plantas em regiões produtoras do estado do Ceará, são ainda escassas. O objetivo deste trabalho foi identificar as espécies de *Meloidogyne* associadas a vegetais e a sua predominância nessas áreas de plantio. A identificação a nível de espécie foi realizada com base nos fenótipos da enzima esterase e a determinação de raças pela reação em plantas diferenciadoras. Setenta e quatro amostras de raízes infestadas com o nematoide, pertencentes a 42 espécies vegetais, foram coletadas em áreas produtoras de 19 municípios do Ceará pertencentes a dez microrregiões. Das 74 populações obtidas, 27 apresentaram fenótipos típicos de *M. incognita* (I1 e I2), 20 de *M. enterolobii* (M2), 15 de *M. javanica* (J3), cinco de *M. arenaria* (A2) e uma de *M. hapla* (H1). Em seis populações, contudo, os fenótipos de esterase observados diferiram dos padrões de *Meloidogyne* conhecidos no Brasil, sendo então referidos como *Meloidogyne* sp. Dentre as 68 associações entre plantas e espécies de *Meloidogyne* bioquimicamente identificadas, 25 são relatadas pela primeira vez no Ceará. Esse trabalho possibilitou atualizar informações relativas à ocorrência, distribuição e novos relatos do nematoide das galhas em áreas agrícolas do estado do Ceará.

Palavras-chave: Nematoide das galhas. Eletroforese. Esterase.

ABSTRACT - The root-knot nematode, genus *Meloidogyne*, is considered the most important among the phytonematodes due to the heavy losses caused in agricultural areas worldwide. Identification of the species of *Meloidogyne* which are present in any one region is essential for understanding the diversity and dispersal of the population, and make possible the adoption of effective control measures. Updated information on the *Meloidogyne* species that occur in plants in productive regions of the state of Ceará is still scarce. The objective of this study was to identify the species of *Meloidogyne* associated with vegetables, and their predominance in these areas of cultivation. Identification to species level was carried out based on phenotypes of the enzyme esterase, and the strain determined by the reaction of differentiating plants. Seventy-four samples of plants infested with the nematode were collected from producing areas in 19 municipalities in ten microregions of Ceará. Of the 74 populations obtained, 27 displayed phenotypes typical of *M. incognita* (I1 and I2), 20 of *M. enterolobii* (M2), 15 of *M. javanica* (J3), 5 of *M. arenaria* (A2) and 1 of *M. hapla* (H1). In six populations however, the phenotypes of esterase which were found differed from the patterns of *Meloidogyne* known in Brazil, and was referred to as *Meloidogyne* sp. Among the 68 associations between plants and species of *Meloidogyne* biochemically identified, 25 are being reported in the state for the first time. This work made it possible to update information on the occurrence, distribution and new reports of the root-knot nematode in agricultural areas of the state of Ceará.

Key words: Root-knot nematode. Electrophoresis. Esterase.

*Autor para correspondência
DOI: 10.5935/1806-6690.20160085

¹Recebido para publicação em 11/11/2014; aprovado em 14/03/2016

Parte da Tese de Doutorado da primeira autora apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia/CCA/UFC, projeto de pesquisa financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPq

²Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, CCA/UFC, Fortaleza-CE, Brasil, mariadocarmo_2012@yahoo.com

³Departamento de Fitotecnia, Setor de Fitossanidade/CCA/UFC, Campus do Pici, Blocos 805 e 806, Fortaleza-CE, Brasil, 60.356-000, carmelo@ufc.br

⁴Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade/UEMA, São Luis-MA, Brasil, gilson_soares@uol.com.br

INTRODUÇÃO

O gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887, conhecido como nematoide das galhas, é considerado o mais importante na agricultura mundial em razão de afetar numerosas culturas provocando elevadas perdas e de comprometer a qualidade dos produtos agrícolas. São conhecidas mais de 90 espécies do gênero *Meloidogyne* afetando numerosas culturas em todo o mundo (HUNT; HANDOO, 2009), sendo *M. incognita* Chitwood 1949, *M. javanica* Chitwood 1949, *M. arenaria* Chitwood, 1949 e *M. hapla* Chitwood 1949 as espécies mais importantes por serem amplamente distribuídas, possuem vasta gama de hospedeiros e por causarem elevados prejuízos na agricultura mundial. No Brasil, além dessas quatro espécies, foram também registradas *M. exigua* Goldi, 1887, *M. coffeicola* Lordello e Zamith, 1960, *M. graminicola* Golden e Birchfield, 1965, *M. hispanica* Hirschmann, 1986, *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. morocciensis* Rammah e Hirschmann, 1990 (CARNEIRO *et al.*, 2001; 2004; 2008b; HUNT; HANDOO, 2009; MANSO *et al.*, 1994; TENENTE *et al.*, 2002). Esses patógenos são prejudiciais às culturas no país em razão de sua alta capacidade reprodutiva e o fato de serem adaptados às condições edafoclimáticas brasileiras (CASTRO; LIMA; CARNEIRO, 2003).

Em geral, os métodos empregados na diagnose de espécies de *Meloidogyne* envolvem a caracterização citogenética, a eletroforese de isoenzimas e a caracterização molecular. 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 (CARNEIRO *et al.*, 2008b; HUNT; HANDOO, 2009). Para identificação de raças empregam-se as plantas diferenciadoras (HARTMAN; SASSER, 1985). O avanço alcançado com a eletroforese de isoenzimas, tornou-a uma ferramenta confiável na diagnose diferencial de espécies do nematoide das galhas, uma vez que os fenótipos de enzimas, especialmente de esterases, são específicos para cada espécie de *Meloidogyne* (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990). O emprego da eletroforese permite caracterizar todas as espécies bioquimicamente descritas, como também fenótipos atípicos, e detecta populações mistas (CARNEIRO *et al.*, 1996; CARNEIRO; ALMEIDA, 2001), o que viabiliza estudos de identificação de espécies de *Meloidogyne* e a sua distribuição no campo.

Um catálogo com uma relação de 362 espécies vegetais em associação com o nematoide das galhas foi

publicado por Ponte (1977), apoiando-se em revisões bibliográficas nacionais e nos registros da coleção nematológica do Setor de Fitossanidade da Universidade Federal do Ceará. Destas, 309 foram relatadas como hospedeiras de seis das espécies de *Meloidogyne* atualmente válidas no Brasil e 53 foram listadas em razão do parasitismo com o nematoide, então identificado apenas a nível de gênero.

Posteriormente, em um levantamento realizado no estado do Ceará, Ponte, Holanda e Aragão (1996) registraram 147 novas espécies vegetais hospedeiras de *Meloidogyne* spp, na maioria plantas daninhas, não havendo em 67 das associações a identificação a nível de espécie. Nos outros 80 materiais vegetais, foram então relatadas *M. incognita*, *M. javanica*, *M. hapla*, *M. arenaria*, *M. thamesi*, atualmente sinônimo de *M. arenaria*, além de diversos casos de infecção mista. Adicionalmente, Freire e Mosca (2009), em levantamentos de patógenos realizados em plantas ornamentais no Ceará, relataram as quatro principais espécies de *Meloidogyne* em 28 espécies vegetais coletadas no estado. Nesses dois relatos com coleta efetuadas no Ceará, a identificação das espécies teve por principal critério as características da configuração perineal, técnica atualmente considerada subjetiva e menos segura, tendo em vista a ocorrência de semelhanças em padrões perineais de espécies diferentes (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001).

Diante da importância do gênero *Meloidogyne* nas culturas, tornam-se necessários a correta identificação da espécie e o conhecimento de sua distribuição no campo para que sejam realizados estudos biológicos, ecológicos e epidemiológicos visando a adoção de medidas de controle adequadas (NEVES; DIAS; BARBOSA, 2009). Diante do exposto e para atualização das informações, foi objetivo deste trabalho identificar as espécies de *Meloidogyne* associadas a vegetais coletados em regiões produtoras no estado do Ceará.

MATERIAL E MÉTODOS

Coletas das amostras em campo

Um total de 74 amostras de raízes obtidas de plantas infestadas pertencentes a 42 espécies vegetais de 23 famílias botânicas foram coletadas em áreas produtoras de 19 municípios no estado do Ceará situados em 10 microrregiões: Aquiraz, Fortaleza, Guaiuba, Maranguape e Pacatuba (Microrregião de Fortaleza), Guaraciaba do Norte, São Benedito e Tianguá (Microrregião da Ibiapaba), Pindoretama (Microrregião de Cascavel), Acaraú (Microrregião de Camocim e Acaraú), Pacajus (Microrregião de Pacajus), Paraipaba (Microrregião do

Baixo Curu), Pentecoste e Tejuçuoca (Microrregião do Médio Curu), Limoeiro do Norte e Tabuleiro do Norte (Microrregião do Baixo Jaguaribe), Aracoiaba e Pacoti (Microrregião de Baturité) e Jaguaribara (Microrregião do Médio Jaguaribe), distribuídas em cinco polos agrícolas irrigados.

As amostras de raízes, individualmente coletadas em sacos plásticos e devidamente identificadas, foram conduzidas ao Laboratório de Fitopatologia, do Setor de Fitossanidade da Universidade Federal do Ceará para observações, análises e registros.

As 42 espécies vegetais coletadas foram as seguintes: acelga (*Beta vulgaris* var. *cicla* L. K. Koch), acerola (*Malpighia glabra* L.), alface (*Lactuca sativa* L.), banana (*Musa* sp.), batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam), berinjela (*Solanum melongena* L.), beterraba (*Beta vulgaris* L.), botão de ouro (*Siegesbeckia orientalis* L.), breço (*Amaranthus viridis* L.), cactos (*Cactus* sp.), cajá (*Spondias mombin* L.), cajarana (*S. dulcis* Parkinson), camará de cheiro (*Lantana camara* L.), canapum (*Physalis angulata* L.), celósia (*Celosia argentes* var. *spicata* L.), cenoura (*Daucus carota* L.), corda de viola (*Ipomoea purpurea* (L.) Roth), falsa serralha (*Emilia fosbergii* Nicolson), goiaba (*Psidium guajava* L.), hypersicum (*Hypericum* sp.), ingá (*Inga edulis* Mart.), ipê (*Tabebuia* sp.), jurubeba (*Solanum paniculatum* L.), malva branca (*Sida cordifolia* L.), mamão (*Carica papaya* L.), manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), maria preta (*Solanum americanum* Mill), maria-sem-vergonha (*Impatiens walleriana* L.), melão (*Cucumis melo* L.), noni (*Morinda citrifolia* L.), palma (*Gladiolus* sp.), papaconha (*Hybanthus ipecacuanha* (L.) Oken.), pimenta tabasco (*Capsicum frutescens* L.), pimenta de cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.), pimentão (*Capsicum annuum* L.), pingo de ouro (*Duranta repens* L. var. *aurea*), quiabo (*Abelmoschus esculentus* L.), repolho (*Brassica capitata* L.), roseira (*Rosa* sp.), tiririca (*Cyperus rotundus* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) e umbu-cajá (*Spondia tuberosa* x *S. mombin*).

Extração de nematoides das raízes para inoculação em mudas

Para a manutenção das populações de *Meloidogyne* provenientes das raízes coletadas, mudas de cóleus (*Solenostemon scutellarioides* L.), planta ornamental altamente suscetível empregada como multiplicadora do nematoide das galhas (SILVA; SANTOS, 2012), foram individualmente inoculadas com suspensão de ovos e juvenis do segundo estágio (J2) obtida de cada amostra pela técnica de Coolen e D'Herde (1972). As plantas inoculadas foram mantidas em vasos plásticos contendo uma mistura de solo e

esterco autoclavado (2:1), identificadas e mantidas em casa de vegetação (29 ± 4 °C).

Caracterização isoenzimática das populações de *Meloidogyne* spp.

Sete a oito fêmeas de coloração branco-leitosa foram aleatoriamente retiradas de raízes de cada uma das 74 plantas parasitadas objetivando, com isso, investigar as espécies do nematoide presentes. Fêmeas, individualmente transferidas para microtubos, foram trituradas na presença de 15 µL de solução preparada para a extração de proteínas (20% sacarose, 2% de Triton X-100, 0,01% de azul de bromofenol e 78% de água destilada). Em seguida, 10 µL de cada extrato proteico, oriundo de maceração de cada fêmea, foram aplicados em cavidades do gel de poliacrilamida. Tendo em vista o grande número de indivíduos para análise, ocasionalmente, as fêmeas trituradas na solução de extração foram congeladas a -20 °C por no máximo dois meses, objetivando a sua preservação ou para possibilitar uma eventual repetição da eletroforese. A amostra padrão consistiu de extratos proteicos de *M. javanica*, os quais foram distribuídos em pelo menos uma das cavidades de cada gel preparado.

Empregou-se o método descontínuo de eletroforese vertical em géis de poliacrilamida (ALFENAS; BRUNE, 2006; ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990), cujas concentrações de bis-acrilamida foram de 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) e 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) nos géis separador e de empilhamento, respectivamente. 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 200 V para a etapa de separação no gel de corrida (40-60 minutos). Ao final do tempo determinado, os géis foram transferidos para uma solução de revelação para a enzima esterase (100 mL de solução tampão fosfato de potássio 0,05M pH 6,0, 100 mg de Fast Blue RR Salt e 4,5 mL de α -naftilacetato 1%), onde permaneceram incubados no escuro em estufa a 37 °C por 30 minutos. Em seguida, os géis foram lavados em água destilada e transferidos para uma solução fixativa (45% de metanol, 9% de ácido acético e 45% de água destilada) onde permaneceram por mais 20 minutos na estufa a 37 °C. Após a revelação, fixação e nova lavagem, o gel foi posto para secar, empregando-se o método do bastidor com papel celofane (ALFENAS; BRUNE, 2006).

Os perfis isoenzimáticos das diferentes populações obtidas das plantas coletadas foram interpretados por meio de comparações com os padrões de esterase já definidos para *Meloidogyne*, segundo metodologia de Esbenshade

e Triantaphyllou (1990) e Carneiro *et al.* (2001). As enzimas esterases são consideradas as mais precisas para identificação das espécies de *Meloidogyne*, enquanto que as malato desidrogenases são usadas somente nos casos em que os padrões de esterases são idênticos (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990).

Caracterização fisiológica das populações de *Meloidogyne*

Dez populações de *M. incognita* identificadas por eletroforese provenientes das culturas de acelga, alface, acerola, cajarana, cenoura, ipê, melão, quiabo, tomate, umbu-cajá; duas populações de *M. javanica* das culturas da banana e cajá, e uma população de *M. arenaria* da ornamental pingo de ouro, foram submetidas à diferenciação de raças pelo teste de hospedeiras diferenciadores, conforme Hartman e Sasser (1985). Para tanto, empregaram-se mudas de algodão 'Deltapine 16' (*Gossypium hirsutum* L.), fumo 'NC 95' (*Nicotiana tabacum* L.), melancia 'Charleston Gray' (*Citrullus vulgaris* L.), amendoim 'Florunner' (*Arachis hypogaea* L.), pimentão 'Early California Wonder' e tomate 'Santa Clara' inoculando-se 4.000 ovos / J2 por planta, as quais foram mantidas em casa de vegetação (29 ± 4 °C). Decorridos 55 dias da inoculação, o sistema radicular das plantas de cada espécie diferenciadora foi examinado quanto à presença ou ausência de galhas para a definição das raças, conforme estabelecido por Hartman e Sasser (1985).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelos perfis isoenzimáticos de esterase das análises eletroforéticas verificou-se a presença das quatro espécies mais comuns de *Meloidogyne* em diferentes percentuais: *M. incognita*, com fenótipo I1 e I2, identificada em 36,4% das plantas (27/74 amostras) pertencentes a 18 espécies vegetais coletadas em 10 municípios de seis microrregiões. *M. javanica* (J3) foi encontrada em 20,2% das amostras (15/74) distribuídas em 10 espécies vegetais de nove municípios localizados em seis microrregiões; *M. arenaria* (A2) constatada em 6,7% das amostras (5/74) em cinco espécies vegetais de quatro municípios pertencentes a três microrregiões e *M. hapla* (H1) observada em apenas uma espécie (1,3%) no município da Microrregião da Ibiapaba onde o clima apresenta temperaturas amenas. Constatou-se também a presença de *M. enterolobii* (M2) em 27% das plantas (20/74 amostras) pertencentes a 15 espécies vegetais coletadas em seis municípios pertencentes a seis microrregiões (Tabela 1).

Meloidogyne incognita foi, portanto, a espécie que apresentou maior número de plantas hospedeiras, seguida por *M. enterolobii*, *M. javanica*, *M. arenaria* e

M. hapla, predominância semelhante àquela relatada por Manso *et al.* (1994) para as quatro principais espécies no Brasil, tendo *M. enterolobii*, porém, superado *M. javanica* em número de hospedeiras nesse levantamento. Nas análises foi possível ainda verificar a rara presença (1,3%) de duas espécies, *M. incognita* e *M. arenaria*, em um mesmo material vegetal, conforme constatado em plantas de noni provenientes de Pacajus (Tabela 1). As espécies *M. incognita* e *M. javanica* estavam presentes em quase 60% das microrregiões do estado, confirmando os relatos anteriores de serem as espécies mais disseminadas no país (MANSO *et al.*, 1994).

Os resultados obtidos neste estudo com a técnica da eletroforese diferiram, em parte, das informações referentes ao levantamento realizado no Ceará por Ponte, Holanda e Aragão (1996), os quais relataram em plantas daninhas a ocorrência de *M. incognita* (35%), *M. javanica* (33%) e *M. arenaria* (13%), em percentuais superiores à dispersão registrada nesse estudo, particularmente para a espécie *M. hapla*, a qual foi identificada neste trabalho em 1,3% das amostras, portanto inferior aos 19% relatados pelos autores em 1996. Além disso, foram raros os casos de infecção mista constatados na avaliação com isoenzimas. A espécie *M. enterolobii* ainda não era conhecida no país, na década de 1990 e não constou nos levantamentos que antecederam a este estudo, cujo material vegetal incluiu fruteiras, hortaliças e plantas daninhas.

Dias-Ariera *et al.* (2010), em levantamento de fitonematoides associados a frutíferas na região noroeste do Paraná, empregando da eletroforese de esterase, também citam a espécie *M. incognita* como a mais frequente, seguida de *M. javanica*. Resultados semelhantes também foram observados por Rosa, Westerich e Wilcken (2013) ao constatarem maior incidência de *M. incognita* (70%), *M. javanica* (27%), em olerícolas cultivadas no estado de São Paulo, diferindo, porém, no percentual da ocorrência da espécie *M. hapla* (9%) e *M. enterolobii* (7%).

Os fenótipos de esterase para as cinco diferentes espécies de *Meloidogyne* caracterizadas neste trabalho, como também da espécie não determinada (*Meloidogyne* sp), encontram-se ilustrados nos géis (Figura 1A-C).

Os resultados das análises eletroforéticas com as amostras de fêmeas que foram mantidas em freezer (-20 °C) por um período de até dois meses não divergiram dos demais testes realizados com amostras recém-trituradas e aplicadas no mesmo dia, indicando a não alteração de suas enzimas pelo congelamento e com o tempo. Esta informação adicional é útil nesse tipo de estudo, uma vez que, em determinadas circunstâncias, um levantamento de campo pode requerer o armazenamento de numerosos exemplares de fêmeas que, uma vez congeladas, não teriam modificadas as suas enzimas.

Tabela 1 - Espécies de *Meloidogyne* associadas a diferentes plantas hospedeiras coletadas em municípios do estado do Ceará. Fortaleza-CE 2014

Cultura	Espécie de <i>Meloidogyne</i>	Local
Acelga	<i>M. incognita</i>	Aquiraz ¹
Alface	<i>M. incognita</i>	Guaraciaba do Norte ²
Alface	<i>M. incognita</i>	Tianguá ²
Acerola	<i>M. enterolobii</i>	Acaraú ⁴
Acerola	<i>M. incognita</i>	Fortaleza ¹
Acerola	<i>M. incognita</i>	Pacajus ⁵
Acerola	<i>M. incognita</i>	Pentecoste ⁷
Acerola	<i>M. incognita</i>	Tejuçuoca ⁷
Banana	<i>M. javanica</i>	Acaraú ⁴
Banana	<i>M. arenaria</i>	Guaiuba ¹
Banana	<i>M. javanica</i>	Limoeiro do Norte ⁸
Batata-doce	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza ¹
Berinjela	<i>M. incognita</i>	Fortaleza ¹
Berinjela	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza ¹
Bredo	<i>M. incognita</i>	Tejuçuoca ⁷
Beterraba	<i>M. incognita</i>	Fortaleza ¹
Beterraba	<i>M. incognita</i>	Guaraciaba do Norte ²
Botão de ouro	<i>M. javanica</i>	Guaiuba ¹
Botão de ouro	<i>M. javanica</i>	Tabuleiro do Norte ⁸
Cactos	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza ¹
Cactos	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza ¹
Cactos	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza ¹
Cajá	<i>M. javanica</i>	Pacajus ⁵
Cajarana	<i>M. incognita</i>	Pacajus ⁵
Camará de cheiro	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza ¹
Canapum	<i>Meloidogyne</i> sp	Guaiuba ¹
Cenoura	<i>M. incognita</i>	Fortaleza ¹
Cenoura	<i>M. incognita</i>	Guaraciaba do Norte ²
Celósia	<i>M. incognita</i>	Pacoti ⁹
Corde de viola	<i>M. javanica</i>	Acaraú ⁴
Falsa serralha	<i>M. javanica</i>	Acaraú ⁴
Falsa serralha	<i>M. enterolobii</i>	Acaraú ⁴
Goiaba	<i>M. enterolobii</i>	Acaraú ⁴
Goiaba	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza ¹
Goiaba	<i>M. enterolobii</i>	Pacajus ⁵
Hypersicum	<i>M. enterolobii</i>	São Benedito ²
Ingá	<i>M. enterolobii</i>	Pacajus ⁵
Ipê	<i>M. incognita</i>	Pacajus ⁵
Malva branca	<i>M. javanica</i>	Acaraú ⁴
Mamão	<i>Meloidogyne</i> sp	Guaiuba ¹

Continuação Tabela 1

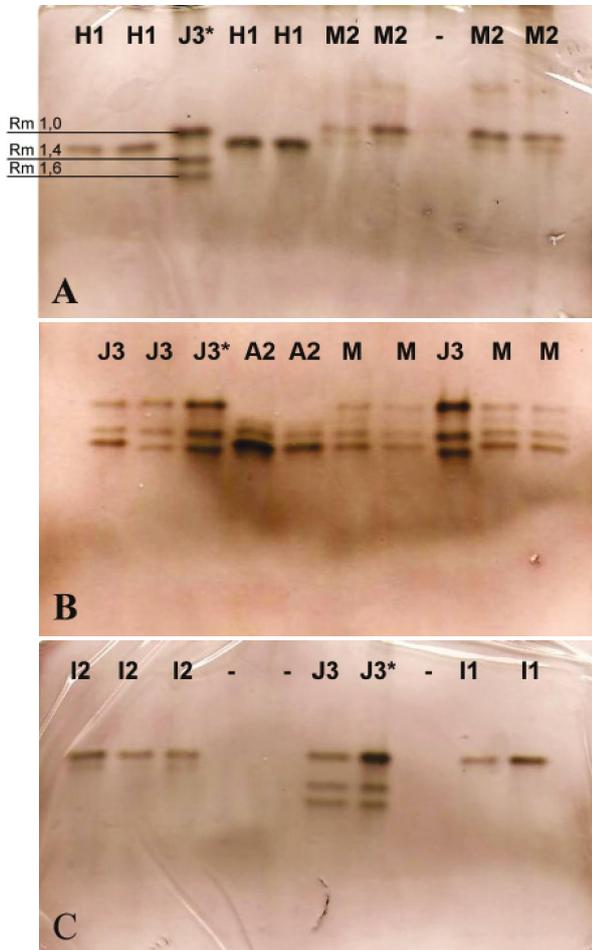
Mamão	<i>Meloidogyne</i> sp	Jaguaribara ¹⁰
Mamão	<i>Meloidogyne</i> sp	Jaguaribara ¹⁰
Mamão	<i>M. javanica</i>	Maranguape ¹
Mamão	<i>M. javanica</i>	Pacatuba ¹
Mamão	<i>M. enterolobii</i>	Paraipaba ⁶
Mamão	<i>M. javanica</i>	Tejuçuoca ⁷
Manjeriço	<i>M. enterolobii</i>	Pacajus ⁵
Maria-pretinha	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza ¹
Maria-sem-vergonha	<i>M. arenaria</i>	Pentecoste ⁷
Melão	<i>M. incognita</i>	Pacajus ⁵
Jurubeba	<i>M. enterolobii</i>	Acaraú ⁴
Jurubeba	<i>M. enterolobii</i>	Pentecoste ⁷
Noni	<i>M. incognita</i>	Fortaleza ¹
Noni	<i>Meloidogyne</i> sp	Fortaleza ¹
Noni	<i>M. javanica</i>	Pacatuba ¹
Noni	<i>M. incognita</i> e <i>M. arenaria</i>	Pacajus ⁵
Noni	<i>M. javanica</i>	Tejuçuoca ⁷
Palma	<i>M. enterolobii</i>	Fortaleza ¹
Papaconha	<i>M. javanica</i>	Acaraú ⁴
Pimentão	<i>M. incognita</i>	Pentecoste ⁷
Pimenta tabasco	<i>M. enterolobii</i>	Paraipaba ⁶
Pimenta de cheiro	<i>M. incognita</i>	São Benedito ²
Pingo de ouro	<i>M. arenaria</i>	Fortaleza ¹
Quiabo	<i>M. incognita</i>	Guaraciaba do Norte ²
Quiabo	<i>M. javanica</i>	Aracoiaba ⁹
Repolho	<i>Meloidogyne</i> sp	Guaraciaba do Norte ²
Roseira	<i>M. hapla</i>	São Benedito ²
Tiririca	<i>M. incognita</i>	Tejuçuoca ⁷
Tomate	<i>M. incognita</i>	Aquiraz ¹
Tomate	<i>M. incognita</i>	Fortaleza ¹
Tomate	<i>M. arenaria</i>	Pentecoste ⁷
Tomate	<i>M. incognita</i>	Pindoretama ³
Umbu-cajá	<i>M. incognita</i>	Pacajus ⁵

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

Neste trabalho, *M. incognita* foi identificada em 27 amostras que incluíam acelga, acerola, alface, berinjela, beterraba, bredo, cajarana, celósia, cenoura, ipê, melão, noni, pimenta de cheiro, pimentão, quiabo, tiririca, tomate e umbu-cajá (Tabela 1). Associação do noni com *M. incognita* já foi anteriormente citada no Ceará por Freire e

Souza (2008). Observou-se nos géis que 70% das amostras de *M. incognita* (19/27) apresentaram o fenótipo II com a visualização de uma única banda, enquanto que em 30% das amostras (8/27) observaram-se padrões com duas bandas bem próximas, o que é característico do fenótipo I2 de *M. incognita* (Figura 1C).

Figura 1 - Fenótipos de esterase de populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de raízes de plantas coletadas em municípios do Ceará. Gel A) H1 = em rosa, M2 = em acerola e hypericum; Gel B) J3 = em quiabo, cajá e em corda de viola; A2 = em noni; M = em canapum e repolho Gel C) I2 = em melão, J3 = em banana, I1 = em cenoura



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

Este resultado está de acordo com a observação feita por Esbenshade e Triantaphyllou (1990) os quais relataram 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) é dificultada em razão de essa banda ser naturalmente mais tênue e, aparentemente, depender do estágio de desenvolvimento da fêmea, sendo mais evidente no gel caso o extrato proteico seja oriundo de várias fêmeas. No entanto, neste trabalho a identificação das espécies de *Meloidogyne* foi feita com fêmeas individuais e, quando

presente, a segunda banda foi facilmente visualizada no gel (Figura 1).

Resultados semelhantes quanto à presença dos fenótipos I1 e I2 de *M. incognita* foram observados por Castro, Lima e Carneiro (2003) em análises de géis com fêmeas obtidas de raízes de outras espécies como a soja (*Glycine max* L.) no Rio Grande do Sul, Paraná, Goiás e Mato Grosso, na figueira (*Ficus carica* L.) por Medina *et al.* (2006) no Rio Grande do Sul e em São Paulo, e o quiwi (*Actinidia deliciosa* (Chevalier) Liang e Ferguson) por Somavilla *et al.* (2011) no Rio Grande do Sul.

Neste estudo, a espécie *M. javanica* foi detectada parasitando raízes de 15 amostras incluindo as culturas de banana, cajá, mamão, noni e quiabo e de vegetação espontânea como botão de ouro, corda de viola, falsa-serralha, papaconha e malva branca, presentes em áreas de vegetação nativa (Tabela 1). Para a espécie *M. javanica* observou-se apenas o fenótipo de esterase J3, semelhante ao padrão de *M. javanica* empregado em todos os ensaios (Figura 1). O fenótipo de esterase J3 de *M. javanica* foi detectado em berinjela, cenoura, feijão vagem (*Phaseolus vulgaris* L.), jiló (*Solanum gilo* Raddi), pimentão e quiabo em levantamentos de nematoides realizado por Carneiro *et al.* (2008a) em hortaliças no Distrito Federal, e por Severino *et al.* (2008) em lavouras de cana-de-açúcar (*Saccharum officinale* (Sacc)) no Paraná, nas quais a espécie *M. javanica* foi a mais frequente (45,95%).

A *M. arenaria* foi constatada em associação com banana, maria-sem-vergonha, noni, pingo-de-ouro e tomate. O fenótipo dessa espécie observado nos géis apresentava duas bandas (A2) (Figura 1B), apesar de existirem fenótipos de uma banda (A1) e de três bandas (A3) (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990). Castro, Lima e Carneiro (2003) constataram tanto o fenótipo A2 como o A3 em soja, enquanto que Somavilla *et al.* (2011) encontraram somente o fenótipo A2 de *M. arenaria* em quiwi, ambos os casos no Rio Grande do Sul. No Ceará, *M. arenaria* já foi relatada em dália (*Dahlia variabilis* Wild.) e em cróton variegado (*Codiaeum variegatum* L.) por Freire e Mosca (2009), e em 14 espécies vegetais, a maioria plantas daninhas e ornamentais, citadas por Ponte, Holanda e Aragão (1996).

A espécie *M. hapla* (H1) foi constatada apenas em amostras de roseiras apresentando o fenótipo de esterase típico de uma única banda (Figura 1A). Amostras de raízes de roseiras foram coletadas no município serrano de São Benedito, região de clima mais ameno quando comparada com outras regiões do estado do Ceará. Essa espécie de nematoide foi anteriormente relatada na região parasitando plantas ornamentais de zínia (*Zinia elegans* Jacq.), girassol (*Helianthus annuus* L.) e dois amores (*Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit.) (FREIRE; MOSCA,

2009), além dos relatos de Ponte, Holanda e Aragão (1996) que citaram sua ocorrência em outras 23 espécies vegetais.

Durante o levantamento realizado neste trabalho, observou-se que a espécie *M. enterolobii* (M2) foi identificada em raízes de acerola, batata doce, berinjela, cactus, goiaba, hypersicum, ingá, jurubeba, mamão, manjeriço, palma, pimenta tabasco e nas plantas daninhas camará-de-cheiro, falsa-serralha e maria-pretinha encontradas espontaneamente nas áreas agrícolas visitadas. Os padrões de esterase observados conferem com os relatados por Carneiro *et al.* (2001) para *M. enterolobii* (= *M. mayaguensis*). De acordo com Almeida *et al.* (2011), *M. enterolobii* tem sido assinalada parasitando culturas como acerola, alface, fumo, pimentão, pepino (*Cucumis sativus* L.), quiabo, soja, tomate e goiaba, entre outras, em praticamente todas as regiões produtoras do país. *M. enterolobii* foi registrada afetando goiaba no Ceará por Torres *et al.* (2005) e posteriormente por Moura, Santos e Torres Filho (2011), os quais relataram os danos causados pelo nematoide na fruteira em assentamentos na região do Cariri-CE.

Em comparação com as listas publicadas por Ponte (1977), Ponte, Holanda e Aragão (1996) e por Freire e Mosca (2009), os quais relataram *Meloidogyne* spp. em culturas e em plantas daninhas no Ceará, verificaram-se, neste levantamento que, dentre as 68 associações com o nematoide das galhas identificado a nível de espécie, 25 delas não foram citadas anteriormente, constituindo este relato como o primeiro registro de sua ocorrência no estado do Ceará como segue: acelga, beterraba, pimenta de cheiro e umbu-cajá infestadas por *M. incognita*; botão de ouro, cajá, papaconha e quiabo com *M. javanica*; maria-sem-vergonha, noni e pingo de ouro com *M. arenaria*; a roseira com *M. hapla*; acerola, batata doce, berinjela, cactus, falsa serralha, hypersicum, ingá, mamão, manjeriço, maria-pretinha, jurubeba, palma, pimenta tabasco com *M. enterolobii*. Ressalta-se, ainda, que infestações em batata doce, berinjela, cactus, falsa serralha, hypersicum, ingá, jurubeba, manjeriço, palma, pimenta tabasco com *M. enterolobii* ainda não tinham sido citadas no país (MANSO *et al.*, 1994; SOUZA *et al.*, 2006; TENENTE *et al.*, 2002).

Além das cinco espécies bioquimicamente caracterizadas, em 8% das amostras (6/74) de quatro espécies vegetais (canapum, mamão, noni e repolho) coletadas em três microrregiões do estado do Ceará (Microrregião de Fortaleza, Médio Jaguaribe e Ibiapaba), distantes geograficamente entre si, houve a constatação de um atípico fenótipo enzimático com quatro bandas obtido de fêmeas isoladas, que diferiu dos padrões enzimáticos já detectados para outras espécies de *Meloidogyne* no Brasil.

Ressalta-se, contudo, que esse perfil de esterase (três bandas principais e uma tênue), foi persistente em todos os géis. Considera-se, assim, que o nematoide, referido neste trabalho como *Meloidogyne* sp (Figura 1B), pode tratar-se de uma nova espécie de nematoide das galhas, pelo menos para o Brasil.

Os resultados dos ensaios conduzidos com as populações de *Meloidogyne* em plantas diferenciadoras revelaram que a raça 2 de *M. incognita* estava ocorrendo em cajarana, ipê e quiabo, uma vez que galhas foram observadas somente em raízes de fumo 'NC 95'. A raça 3, por outro lado, foi constatada em acerola, alface, celosia, cenoura, melão, tomate e umbu-cajá, tendo em vista que apenas o algodão 'Deltapine 16' apresentou infestação. A ocorrência natural da raça 3 de *M. incognita* parece ser mais comum, e estava presente em cinco microrregiões do estado. A raça 2 de *M. javanica* foi identificada em populações oriundas de banana e cajá, visto que a espécie diferenciadora pimentão 'Early California Wonder' foi parasitada não ocorrendo o mesmo com o amendoim 'Florunner'. A raça 1 de *M. arenaria* foi verificada em populações provenientes de pingo de ouro, uma vez que ambas as espécies indicadoras inoculadas, pimentão e amendoim, foram infestadas. Em estudos conduzidos por Pires *et al.*, (2008) visando identificar a raça de *M. incognita* em populações oriundas de algodão na região noroeste do Paraná, foi possível detectar apenas a presença da raça 3 nos diversos municípios amostrados.

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.

CONCLUSÕES

1. As espécies *M. incognita*, *M. enterolobii*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* estão distribuídas no estado do Ceará afetando diversas espécies vegetais;
2. Perfil de esterase diferente das espécies de *Meloidogyne* relatadas no Brasil foi encontrado em populações afetando canapum, mamão, repolho, noni;
3. Este estudo contribuiu para a atualização das informações relativas à ocorrência, distribuição e novos relatos do nematoide das galhas do estado do Ceará.

AGRADECIMENTOS

À CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro, ao Setor de Fitossanidade do Centro de Ciências Agrárias

da UFC onde foi conduzida a pesquisa e à ADAGRI-CE pelo apoio técnico nas coletas.

REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C.; BRUNE, W. Eletroforese em gel de poliacrilamida. In: ALFENAS, A. C. (Ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins**: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Viçosa: UFV, 2006. cap. 4, p. 151-182.
- ALMEIDA, E. J. *et al.* Assinalamentos de *Meloidogyne enterolobii* em goiabeira e em plantas invasoras no estado de São Paulo, Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 35, n. 1/2, p. 50-52, 2011.
- CARNEIRO, R. M. D. G. *et al.* Enzyme phenotypes of brazilian isolates of *Meloidogyne* spp. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 19, p. 555-560, 1996.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; *et al.* Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 223-228, 2001.
- CARNEIRO, R. M. D. G. *et al.* Ocorrência de *Meloidogyne* spp. e fungos nematófagos em hortaliças no Distrito Federal, Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 135-141, 2008a.
- CARNEIRO, R. M. D. G. *et al.* Primeiro registro de *Meloidogyne hispânica* Hirschmann, 1986 em abóbora no Estado da Bahia, Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 215-218, 2004.
- CARNEIRO, R. M. D. G. *et al.* Diversity of *Meloidogyne arenaria* using morphological, cytological and molecular approaches. **Nematology**, v. 10, n. 6, p. 819-834, 2008b.
- 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.
- 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.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Agricultural Research Center, 1972. 77 p.
- DIAS-ARIEIRA, C. R. *et al.* Fitonematoides associados a frutíferas na região Noroeste do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1064-1071, 2010.
- 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.
- 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. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 20., 2008, Vitória-ES. **Anais eletrônicos...** Disponível em: < http://www.incaper.es.gov.br/congressos/congresso_fruticultura/images/Trabalho%20Poster.pdf >. Acesso em: 08 jan. 2014.
- 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.
- 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. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985. p. 69-77.
- 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: CABI International, 2009. p. 55-88.
- MANSO, E. C. *et al.* **Catálogo de nematóides fitoparasitas encontrados, associados a diferentes tipos de plantas no Brasil**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1994. 488 p.
- MEDINA, I. L. *et al.* Caracterização e identificação de nematoide de galhas proveniente de figueiras (*Ficus carica* L.) do Rio Grande do Sul e de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 2, p.179-187, 2006.
- 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. In: ENCONTRO UNIVERSITÁRIO DA UFC NO CARIRI, 3., 2011, Juazeiro do Norte-CE. **Anais...** Juazeiro do Norte, 2011.
- 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**, v. 33, n. 4, p. 281-285, 2009.
- PIRES, E. *et al.* Ocorrência de *Meloidogyne incognita* raça 3 em lavouras de algodão na região noroeste do Paraná. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 81-83, 2008.
- PONTE, J. J. **Nematóides das galhas**: espécies ocorrentes no Brasil e seus hospedeiros. Mossoró: ESAM, 1977. 100 p. (Coleção Mossoroense, 54).
- 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.
- ROSA, J. M. O.; WESTERICH, J. N.; WILCKEN, S. R. Nematoides das galhas em áreas de cultivo de olerícolas no estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, v. 37, n. 1/2, p. 15-19, 2013.
- SEVERINO, J. J. *et al.* 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, 2012. (Suplemento).

SOMAVILLA, L. *et al.* Levantamento e caracterização de espécies do nematóides das galhas em quivi no Rio Grande do Sul, Brasil. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 2, p. 89-94, 2011.

SOUZA, M. R. *et al.* 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. *et al.* **Bibliografia brasileira de nematóides**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2002, 400 p. (Documento 76).

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.