

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

FRANCIELLE FIORENTIN

**IDENTIFICAÇÃO DE *Meloidogyne* spp. EM RESERVAS LEGAIS E AVALIAÇÃO  
DO PARASITISMO DE *Meloidogyne incognita* RAÇA 03 e *M. javanica* EM  
PLANTAS NATIVAS DO OESTE PARANAENSE**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PR  
JUNHO / 2010

FRANCIELLE FIORENTIN

**IDENTIFICAÇÃO DE *Meloidogyne* spp. EM RESERVAS LEGAIS E AVALIAÇÃO  
DO PARASITISMO DE *Meloidogyne incognita* RAÇA 03 e *M. javanica* EM  
PLANTAS NATIVAS DO OESTE PARANAENSE**

Dissertação apresentada a Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, para a obtenção do título de mestre.

Orientador: Dr. José Renato Stangarlin

Co-orientadora: Dr. Lucimar Pereira Bonett.

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PR  
JUNHO / 2010

## DEDICATÓRIA

*Dedico a todos que acreditaram, que um dia este sonho pudesse se tornar realidade. Aos que me apoiaram, lutaram e venceram comigo! Tenham a certeza de que esta etapa vencida não é só minha, mas de todos que um dia, nem que fosse através de um pensamento positivo, uma palavra amiga, um gesto de dedicação, me ajudaram. Em especial à minha família, Waldir, Maria, Marcos, Paulo, cunhadas e minha adorável afilhada Maria Vitória e sobrinho Júnior.*

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus pela vida, Ele que se fez presente em todos os momentos, transmitindo-me segurança necessária para enfrentar os obstáculos e seguir em frente.

Aos meus pais, Waldir e Maria. Meus sinceros agradecimentos e desculpas. Pela falta de tempo, pelos deslizes, mas em especial agradecer pelo amor, incentivo, apoio. Sem vocês, que são meu maior tesouro nada disso poderia ter sido concretizado.

Aos meus irmãos, Paulo e Marcos, e cunhadas Adriane e Janete, pelo incentivo e pela força. A minha amável afilhada Maria Vitória e meu sobrinho Júnior, uma das minhas maiores alegrias durante este período.

Ao professor Dr. José Renato Stangarlin, pelo apoio, incentivo, pela orientação maravilhosa, pela força e pela fé. Uma pessoa exemplar, inigualável, que possui o dom de saber transmitir seus conhecimentos da melhor forma possível, acreditando sempre no potencial de cada um. Um exemplo a se seguir. Meus sinceros agradecimentos pela orientação e pela confiança durante a realização dos trabalhos.

Ao professor Dr. Cleber Furlanetto, pelos ensinamentos, pela orientação, pelos esforços ao qual teve e pela confiança em depositar este trabalho, fruto de anos de estudo, para que eu pudesse prosseguir-lo, meus sinceros agradecimentos.

A professora Dra. Lucimar Pereira Bonett, pelo apoio e auxílio e pelo espaço fornecido para realização das análises no laboratório de Biotecnologia da UNIPAR.

À UNIOESTE, pela oportunidade concedida.

Aos colegas do laboratório de Nematologia e Fitopatologia da UNIOESTE, em especial Marta Bianchini, Heloísa M. Formentini, Cristiane Meinerz, Gilmar Franzener, Omari Dlider, Charles Erig, Clóvis Casagrande Júnior, e a todos que estiveram presentes, ajudando, aconselhando. Obrigada, pelo maravilhoso auxílio para a realização deste trabalho.

A Vanessa Cristina Antes, pelo apoio nas análises no laboratório de Biotecnologia.

Aos colegas do mestrado, Alice Moraes, Patrícia Mantovani, Ana Carolina de Cristo Leite, Viviane M. Celant, aos amigos Valdemir Aleixo, Juliana Ester Lunkes

Aleixo, Eliane Berchermbrock, Mariele Bohn, Evilin Goetz, enfim, aos que aqui não foram citados, primeiro peço desculpas pelos momentos ausentes, pelas faltas. Agradeço a compreensão, o carinho, o apoio, e em especial a amizade, que nada neste mundo pode valer mais que bons amigos.

Aos colegas de mestrado com quem realizei trabalhos e com os quais convivi durante este tempo.

Aos professores do Curso de Mestrado em Agronomia, pelos ensinamentos ministrados.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a obtenção do título de Mestre em Agronomia.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>8</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>9</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>10</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>12</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>13</b>
2.1 ÁREAS DE RESERVA LEGAL NO OESTE DO PARANÁ .....	13
2.2 NEMATÓIDES.....	14
2.3 GÊNERO <i>Meloidogyne</i> .....	15
2.3.1 Sintomatologia.....	17
2.3.2 Ciclo de vida.....	17
2.3.3 Controle.....	18
2.3.4 Identificação de <i>Meloidogyne</i> .....	19
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>22</b>
3.1 IDENTIFICAÇÃO DE POPULAÇÕES DE <i>Meloidogyne</i> spp. EM RESERVAS LEGAIS .....	22
3.1.1 Abrangência da área pesquisada.....	22
3.1.2 Coleta e identificação de plantas.....	23
3.1.3 Identificação de <i>Meloidogyne</i> spp. ....	24
3.1.3.1 Identificação de <i>Meloidogyne</i> spp. pela técnica da configuração da região perineal .....	24
3.1.3.2 Identificação de <i>Meloidogyne</i> spp. pelo fenótipo isoenzimático para esterase .....	24
3.2 PARASITISMO DE <i>Meloidogyne</i> spp. EM PLANTAS NATIVAS.....	25
3.2.1 Identificação de <i>Meloidogyne</i> spp. em mudas.....	25
3.2.2 Obtenção de populações de <i>Meloidogyne</i> spp.....	27
3.2.3 Extração de ovos/J2 de <i>Meloidogyne</i> spp. e preparo da solução de inóculo ..	27
3.2.4 Inoculação de <i>Meloidogyne</i> spp. em plantas nativas .....	28
3.2.5 Avaliação.....	29
3.2.6 Análise estatística .....	30

<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>31</b>
4.1 IDENTIFICAÇÃO DE POPULAÇÕES DE <i>Meloidogyne</i> spp. EM RESERVAS LEGAIS .....	31
4.2 PARASITISMO DE <i>Meloidogyne</i> spp. EM PLANTAS NATIVAS .....	38
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>45</b>
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>46</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>47</b>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 01.** Vista aérea de três áreas amostradas no município de Cascavel – PR. Mata 01 latitude 24°58'36.62°S e longitude 53°30'45.58°O, mata 02 latitude 24°58'22.68°S e longitude 53°30'31.89°O e mata 03 latitude 24°59'47.51°S e longitude 53°29'15.18°O.....22
- Figura 02.** Vista aérea de três áreas amostradas no município de Terra Roxa – PR. Mata 01 latitude 24°07'37.15°S e longitude 54°08'23.11°O, mata 02 latitude 24°08'52.20°S e longitude 54°03'43.68°O e mata 03 latitude 24°06'0.93°S e longitude 54°04'45.4°O. ....23
- Figura 03.** Galhas encontradas no sistema radicular da planta Rubim no município de Marechal Cândido Rondon, infectada naturalmente por *M. incognita*. ....32
- Figura 04.** Configuração perineal em fêmeas de *Meloidogyne* spp. coletadas no município de Cascavel - PR para identificação das espécies. Figuras A e B representam *M. javanica*, encontrada parasitando a planta Falsa-serralha, e figura C representando *M. javanica* parasitando Corda-de-viola. ....33
- Figura 05.** Configuração perineal em fêmeas de *Meloidogyne* spp. coletadas no município de Terra Roxa - PR para identificação das espécies. Figuras A e B representam *M. javanica* e *M. incognita* respectivamente, encontradas parasitando a planta Maria-pretinha. Figura C representa *M. javanica* parasitando a planta Quaresminha-do-brejo. ....33
- Figura 06.** Fenótipos de esterese para as espécies de plantas encontradas com sintomas de galhas no município de Cascavel – PR. *M. javanica*, utilizada como padrão no primeiro poço. Poços 02, 03, 04 e 05 apresentam as amostras de fêmeas de *Meloidogyne* spp. retiradas para análise da planta Falsa-serralha. Poços 06 e 07 representam as fêmeas da planta Corda-de-viola.....34
- Figura 07.** Fenótipos de esterese para as espécies de plantas encontradas com sintomas de galhas no município de Terra Roxa – PR. *M. javanica*, utilizada como padrão no primeiro poço. Poços 02, 03, 04 e 05 apresentam as amostras de fêmeas de *Meloidogyne* spp. retiradas para análise da planta Maria-pretinha . Poços 06 e 07 representam as fêmeas da planta Quaresminha-do-brejo. ....35
- Figura 08.** Configuração perineal de *M. incognita* encontrada nas espécies naturalmente infectadas. ....40



Figura 09. Sistema radicular da planta Açoita-cavalo após inoculação com <i>M. incognita</i> raça 03.....	43
---	----

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01.</b> Plantas nativas do Oeste do Paraná avaliadas com relação ao parasitismo de <i>Meloidogyne</i> spp.....	26
<b>Tabela 02.</b> Relação das plantas inoculadas com diferentes espécies de <i>Meloidogyne</i> spp. ....	29
<b>Tabela 03.</b> Relação de plantas encontradas infectadas naturalmente em Reservas legais dos municípios de Cascavel, Terra Roxa e Marechal Cândido Rondon - PR 32	
<b>Tabela 04.</b> Reação de plantas nativas isentas de infecção natural e inoculadas com <i>M. incognita</i> raça 03 .....	39
<b>Tabela 05.</b> Reação de plantas nativas isentas de infecção natural e inoculadas com <i>M. javanica</i> .....	40

## RESUMO

### IDENTIFICAÇÃO DE *Meloidogyne* spp. EM RESERVAS LEGAIS E AVALIAÇÃO DO PARASITISMO DE *Meloidogyne incognita* RAÇA 03 e *M. javanica* EM PLANTAS NATIVAS DO OESTE PARANAENSE

Os nematóides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* estão entre os maiores agentes causadores de danos em plantas, pois possuem ampla distribuição geográfica e são de difícil controle. Há uma grande justificativa sobre estudos que envolvam a diversidade de fitonematóides, tanto nas áreas agrícolas como em áreas cobertas com vegetação primária, onde o aumento das perdas econômicas causadas à atividade agrícola tem despertado crescente interesse. Com o objetivo de identificar populações de *Meloidogyne* em reservas legais pertencentes aos municípios de Cascavel, Terra Roxa e Marechal Cândido Rondon – PR foram realizadas coletas em cinco áreas pertencentes a cada município, objetivando encontrar plantas parasitadas naturalmente. Através de identificações baseadas na técnica da configuração perineal e fenótipo enzimático para esterase identificou-se populações de *M. incognita* e *M. javanica* parasitando naturalmente as plantas nestas reservas. As plantas encontradas naturalmente infectadas foram *Emilia sonchifolia*, *Ipomea triloba*, *Solanum americanum*, *Tibouchina herbacea* e *Leonorus sibiricus*. Em relação ao parasitismo de *Meloidogyne*, mudas de 32 espécies arbóreas foram coletadas e analisadas quanto a ocorrência natural de meloidoginose, bem como sua reação a inoculação com *M. incognita* raça 03 e *M. javanica*. As espécies nativas *Rollinia mucosa*, *Cariniana rubra*, *jaracatiá spinosa*, *Citharexylum myrianthum*, *Aspidosperma subcanum*, *Peltophorum dubium* e *Ruprechtia laxiflora* apresentaram infecção natural com *M. incognita*. As mudas ao qual não apresentavam sintomas de galhas no sistema radicular foram inoculadas com *Meloidogyne* spp. sendo realizados dois experimentos, um com inoculações com *M. incognita* raça 03 e outro com inoculações com *M. javanica*. As variáveis analisadas foram número total de galhas (IG), número de ovos e J/2 por sistema radicular (Ovos/SR) e o cálculo do Fator de Reprodução (FR). Comportaram-se como resistentes à *M. incognita* raça 03 as espécies *Tabebuia impetiginosa*, *Chorisia speciosa*, *Galipea jasminiflora*, *Machaerum villosum*, *Ingá laurina*, *Allophylus edulis*, *Campomanesia guazummaefolia*, *Luehea candicans*, *Archontophoenix alexandre*, *Schinus terebinthifolia* e *Pterogyne nitens*, e as espécies *Psidium cattleianum*, *Cedrelo fissilis* e *Eugenia involucrata* mostraram-se imunes. Em relação as espécies inoculadas com *M. javanica*, *Jacaranda micrantha*, *Tabebuia heptaphylla*, *Endlicheria paniculata*, *Cabranea canjerana*, *Tabebuia crysotrycha*, *Genipa infudiboliformis*, *Bastardiopsis densiflora*, *Eugenia pyriformis*, *Balfourodendron riedelianum* e *Patagonula americana* mostraram-se resistentes, e *Caesalpinia ferrea* apresentou-se imune.

**Palavras-chave:** Nematóide de galhas, meloidoginose, Fator de Reprodução.

## ABSTRACT

### IDENTIFICATION OF *Meloidogyne* spp. IN LEGAL RESERVES AND EVALUATION OF THE PARASITISM OF *Meloidogyne incognita* RACE 03 and *M. Javanica* IN NATIVE PLANTS OF WEST PARANA.

The Nematóides pertaining to the *Meloidogyne* kind are among the greatest agents responsible of damage in plants, because of its wide geographic distribution and difficult control. There is a great justification on studies that involve the diversity of fitonematoides, both in the agricultural areas and in areas covered with primary vegetation, where the increase of economic losses caused to the agricultural activity has aroused increasing interest. With the aim to identify populations of *Meloidogyne* pertaining to legal Reserves in the counties of Cascavel, Terra Roxa and Marechal Cândido Rondon – PR, collects were made in five areas pertaining to each county, with the purpose to find plants naturally parasitized. Through identifications based on the technique of perineal configuration and fenotipo enzimatic for esterase, *M. incognita* and *M. javanica* were identified for naturally parasitizing the plants in these reserves. The plants that were naturally infected were *Emilia sonchifolia*, *Ipomea triloba*, *Solanum americanum*, *tibouchina herbacea* and *Leonorus sibiricus*. In relation to the parasitism of *Meloidogyne*, plants of 32 species had been collected and analyzed as for the natural occurrence of meloidoginose, as well as its reaction to inoculation with *M. incognita* 3 race and *M. javanica*. It was observed that native species like *Rollinia mucosa*, *Cariniana rubra*, *jaracatiá spinosa*, *Citharexylum myrianthum*, *Aspidosperma subicanum*, *Peltophorum dubium* and *Ruprechtia laxiflora* presented natural infection with *M. incognita*. The plants which did not present symptoms of root-knots in the radicular system had been inoculated with *Meloidogyne* spp. The analyzed variables were total gall number(IG), J/2 egg number by radicular system (EGGS/RS) and calculus of Reproduction Factor (RF). The ones resistant to *M. incognita* race 03 were species like *tabebuia impetiginosa*, *Chorisia speciosa*, *Galipea jasminiflora*, *Machaerum villosum*, *Ingá laurina*, *Allophylus edulius*, *Campomanesia guazummaefolia*, *Lueha candicans*, *Archontophoenix alexandre*, *Shinus terebinthifolha* and *Pterogyne nitens* and species like *Psidium cattleianum*, *Cedrelo fissilis* and *Eugenia involucrate* were immune. In relation to inoculated species with *M. javanica*, *Jacaranda micrantha*, *tabebuia heptaphylla*, *Endliicheria paniculata*, *Cabralea canjerana*, *Tabebuia cysotricha*, *Genipa infudiboboliformis*, *Bastardiopsis densiflora*, *Eugenia pyriforms*, *Balfourodendron riedelianum* and *Patagonula americana* revealed to be resistant, and *Caesalpinia ferrea* was immune.

**Keywords:** Root-Knot Nematóide, Meloidoginose, Reproduction Factor.

## 1 INTRODUÇÃO

Os estudos sobre a diversidade de fitonematóides, tanto em áreas agrícolas como naquelas cobertas pela vegetação primária tem despertado crescente interesse, pelo progressivo aumento das perdas econômicas causadas à atividade agrícola por esses patógenos. Em relação a comunidade de fitonematóides em ecossistemas naturais, os estudos se justificam em termos biológicos pela grande representividade do filo Nematoda. Em termos econômicos, a justificativa recai nos seus possíveis efeitos sobre a vegetação e, principalmente, na necessidade de compreender a ecologia de fitonematóides em seu ambiente original, uma vez que as espécies de importância agrícola nada mais são que os organismos originários de ecossistemas naturais que se adaptaram às áreas cultivadas.

Embora fenômenos naturais, como enxurradas e ventos, possam contribuir para dispersão e disseminação dos fitonematóides, estes processos são realizados principalmente por meio das atividades humanas, uma vez que, pelos próprios meios, os nematóides deslocam-se pouco.

Os nematóides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* estão entre os maiores agentes causadores de danos econômicos em plantas. Dentre as oitenta espécies de *Meloidogyne* descritas no mundo, as mais disseminadas são *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* e *M. javanica*, onde no Brasil são conhecidas cerca de 38 espécies das quais *M. incognita*, *M. javanica*, *M. paranaensis* e *M. exigua* são as mais importantes para a agricultura do Oeste Paranaense.

O parasitismo de *Meloidogyne* em plantas nativas do Oeste Paranaense foi pouco estudado, e considerando a importância que as espécies nativas vem adquirindo e na necessidade de preservação das mesmas, é de fundamental importância avaliar a hospedabilidade dessas espécies nativas a nematóides, pois os mesmos podem afetar programas de reflorestamento, bem como servir de inóculo para outras culturas de importância econômica, onde são escassas as informações sobre a ocorrência de nematóides potencialmente patogênicos a essas plantas.

Com base no exposto acima, objetivou-se com este trabalho fazer um estudo da biodiversidade de populações de *Meloidogyne* em reservas legais pertencentes aos municípios de Cascavel, Marechal Cândido Rondon e Terra Roxa – Paraná, além de estudar o parasitismo de *M. incognita* raça 03 e *M. javanica* em plantas nativas do Oeste Paranaense.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ÁREAS DE RESERVA LEGAL NO OESTE DO PARANÁ

As relações do homem com a natureza são tão antigas quanto a própria existência da humanidade. As características dessas relações, entretanto, se alteraram significativamente com o passar do tempo, condicionadas pelo processo de desenvolvimento a que o homem sempre esteve sujeito. No princípio, a interferência do homem nos ecossistemas era mínima, mas, com o crescimento da população humana e conseqüentemente o processo de urbanização, ocorreram transformações drásticas nos ecossistemas que alteraram profundamente o equilíbrio da biosfera (SCHNEIDER et al., 2005).

As áreas de preservação permanente do Estado do Paraná são compostas por diferentes tipos de vegetação e classificadas como mangue, restinga, mata Atlântica (Floresta Ombrófila Densa), Floresta com Araucária (Floresta Ombrófila Mista), Cerrado, Campos e Floresta Estacional Semidecidual (AMBIENTEBRASIL, 2006), sendo a Floresta Estacional Semidecidual predominante no Oeste do Paraná, desenvolvendo-se em latossolo roxo profundo e de alta fertilidade, mas sujeita a déficit hídrico, o que a torna mais aberta (LANGOWSKI, 2005).

As reservas legais apresentam características ecológicas e ambientais específicas, as quais principalmente visam à conservação e preservação do meio ambiente para as presentes e futuras gerações, bem como para o equilíbrio ambiental (HENKES, 2004). Por definição, as reservas legais são pequenas áreas de florestas nativas, as quais objetivam conservar e reabilitar os processos biológicos, abrigar e proteger a fauna e a flora, bem como conservar a biodiversidade (SANTOS, 2006).

A mata Atlântica está entre as florestas com a maior diversidade de espécies de animais e vegetais do mundo, sendo responsável pelas condições ambientais necessárias à sobrevivência e a qualidade de vida de mais de 130 milhões de espécies, abrigando uma enorme variedade de mamíferos, aves, peixes, insetos, além das variadas formas de vida como fungos, bactérias e nematóides (WWF – BRASIL, 2005).

Segundo o Código Florestal, nos casos de reposição florestal, deverão ser priorizados projetos que contemplem a utilização de espécies nativas. É também desejável que as reservas legais e matas ciliares contemplem uma grande variedade de espécies, para manter sua função ambiental (RIBEIRO, 2003).

## 2.2 NEMATÓIDES

Os nematóides são invertebrados, integrantes da microfauna do solo. Dentre os animais multicelulares, os nematóides são os mais abundantes. Possuem diversos hábitos alimentares e diferentes papéis ecológicos no solo, sendo relacionados com a condição ecológica do solo (YEATES et al., 1993).

Nematóides são organismos geralmente tubulares alongados, que em média medem de 0,1 a 4,0 mm de comprimento. Os nematóides são organismos pseudocelomados, não segmentados, de simetria bilateral, ovíparos, dióicos (machos e fêmeas), com sistema digestivo e reprodutivo completo. Pertencem ao reino Animal (Animalia), filo Nemata ou Nematoda. Encontram-se na água, solo, matéria orgânica em decomposição, se alimentando de organismos como bactérias, fungos, outros nematóides e parasitando plantas (fitoparasitos) e animais (zooparasitos) (CARES et al., 2006).

A movimentação dos nematóides no solo ocorre entre as partículas e no filme de água. O tamanho dos poros ou interstícios permitem uma movimentação mais dinâmica; quando eles são de tamanho maior que o corpo dos nematóides, transformam-se, com o auxílio da umidade, em canais por onde os nematóides movimentam-se no solo (TIHOHOD, 1993).

Comunidades de nematóides de solo são poliespecíficas constituídas basicamente por cinco grupos funcionais: bacteriófagos, micófagos, parasitos de plantas, predadores e onívoros (CARES et al., 2006). Os dois grupos mais abundantes são os fitófagos, também conhecidos como parasitas de plantas e os bacteriófagos (YEATES et al., 1993).

Todo o corpo do nematóide é envolto por uma camada protetora conhecida como cutícula. A cutícula dos nematóides pode ser lisa ou anelada quando vista ao microscópio ótico. O corpo do nematóide possui três partes: região cefálica (cabeça), onde encontram-se os lábios, os anfídeos (receptores químicos), as papilas (receptores tácteis), a boca (estoma) e o estilete, região mediana, nesta

região encontra-se o esôfago, intestino e o sistema reprodutivo (vulva, ovário) e no macho, parte do sistema reprodutivo e a região caudal, que é composta em geral pelos fasmídeos (órgãos sensoriais), receptores tácteis, ânus ou cloaca, espículos (machos) e bursas (machos) (CARES et al., 2006).

A morfologia da região anterior e da cavidade bucal do nematóide está relacionada com seu hábito alimentar. Nematóides fitoparasitos apresentam estilete, o qual pode ser do tipo estomatostílio ou odontostílio. Porém, nem todos os nematóides que possuem estilete são fitoparasitos. Existem nematóides portadores de estilete que são micófagos; outros são predadores ou onívoros. Portanto, a presença do estilete é condição necessária, mas não suficiente para o parasitismo (GOULART, 2007). O estilete é uma estrutura alongada e fina usada para romper a parede celulósica das células das plantas, com isso facilitando a ingestão de alimentos (CARES et al., 2006) .

Todas as espécies de plantas cultivadas existentes na terra são atacadas por fitonematóides. Sua presença, contudo, é pouco notada pelos agricultores, devido ao seu pequeno tamanho e pelo fato de geralmente não provocarem o aparecimento de sintomas muito visíveis nas plantas (TIHOHOD, 1989).

### 2.3 GÊNERO *Meloidogyne*

Os nematóides do gênero *Meloidogyne* (conhecidos como nematóides de galhas por causarem engrossamento das raízes) são tidos como os mais importantes nematóides fitopatogênicos, pois tem uma ampla distribuição geográfica e apresentam uma enorme gama de hospedeiros, causando grandes danos as culturas (FREITAS et al., 2001).

Em 1855, Berkeley classificou o nematóide das galhas como *Heterodera radicola*. Jobert, em 1877, associou a presença de galhas em raízes de cafeeiro no Rio de Janeiro com o declínio da cultura, e Goeldi, em 1887, classificou o nematóide das galhas como *Meloidogyne exigua*. Esta foi a primeira vez que o nematóide das galhas foi chamado de *Meloidogyne*, mas este gênero não foi imediatamente aceito pela comunidade científica. Goodey, por exemplo, em 1939 classificou o nematóide das galhas de *Heterodera marioni*. Foi em 1949 que Chitwood fez uma revisão completa e classificou as quatro principais espécies de *Meloidogyne* spp. (*M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla*), separando-as pelas marcas



cuticulares na região perineal. A partir daí, os nematóides das galhas foram reconhecidos mundialmente como gênero *Meloidogyne*. Este nematóide é encontrado nas mais importantes culturas agrônômicas do Brasil, causando grandes perdas e chegando a ser fator limitante de cultivo (LORDELLO, 1992).

Eisenback (1997) relata que setenta e nove espécies do gênero haviam sido descritas na literatura mundial até a década de 90. No Brasil, há nove espécies descritas e alguns relatos de possíveis espécies novas, das quais necessitam de confirmação. De acordo com Carneiro e Almeida (2001), as espécies de *Meloidogyne* que são as mais difundidas e que causam maiores danos à agricultura mundial são *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla*.

Segundo Sasser (1980), além da ampla distribuição geográfica e gama de hospedeiras, este gênero também tem envolvimento com fungos, bactérias e vírus, e até mesmo com outros nematóides, apresentando interações nas doenças do tipo complexo. Considerando as grandes dificuldades inerentes as práticas de controle, o gênero *Meloidogyne* pode ser considerado um dos mais importantes fitopatógenos.

Atualmente, são muitas as avaliações de severidade envolvendo as mais diferentes combinações de *Meloidogyne* spp., espécies botânicas e cultivares, no mundo inteiro (MOURA, 1996).

Sasser e Freckman (1986) fizeram uma pesquisa, onde estes enviaram formulários a diferentes regiões geográficas do mundo, indagando sobre o “ranking” dos cinco mais importantes gêneros de fitonematóides ocorrentes em países ou estados. A partir dos dados obtidos, observou-se que *Meloidogyne* é citado sempre entre os mais importantes fitonematóides.

Os nematóides das galhas representam um dos principais problemas para diversas culturas de importância agrícola no Brasil e no mundo, ocorrendo como maior frequência em países tropicais e subtropicais devido a temperatura e umidade adequadas para o seu desenvolvimento (LUC et al., 1990). As plantas infectadas tornam-se mais suscetíveis a outros fitopatógenos, ficam menos resistentes a estresses, especialmente o hídrico, e não respondem satisfatoriamente às práticas de adubação (MOURA, 1996).

No Brasil, principalmente *M. javanica* e *M. incognita* representam sérios problemas a produção em diversas regiões, como no norte do Rio Grande do Sul, no oeste, sudoeste e norte do Paraná, no sul e norte de São Paulo e no sul do Triângulo Mineiro. Na região central do Brasil, vários focos tem sido detectados e o

problema é crescente. As principais causas deste problema são a baixa eficiência de alguns sistemas de rotação de culturas na redução populacional destes parasitas e a evidente carência de cultivares resistentes adaptadas as diferentes regiões do país (SILVA, 1998).

### 2.3.1 Sintomatologia

As meloidoginose caracterizam-se por diferentes sintomas, uns ditos diretos, observados nos próprios órgãos vegetais infestados (geralmente subterrâneos), e outros chamados reflexos, verificados na parte aérea das plantas (FERRAZ e MONTEIRO, 1995).

Os sintomas na planta resultam de murcha nas horas mais quentes do dia, declínio, queda de folhas e sintomas de deficiência mineral. Nas raízes, que se desvitalizam e param de crescer, as galhas e rachaduras são visíveis. As vezes há formação de raízes laterais curtas, mas a formação das galhas, de tamanhos variáveis, constitui-se no aspecto mais visível (OTT, 2003).

Os sintomas reflexos ou secundários caracterizam-se pelo tamanho desigual das plantas que formam reboleiras a campo. A distribuição tipicamente irregular dos nematóides nas culturas infestadas conduz a uma desuniformidade no crescimento das plantas. Essa é uma condição predominante das meloidoginose, excetuando-se os casos de culturas formadas a partir de mudas já infestadas, quando o ataque pode se revelar generalizado (FERRAZ e MONTEIRO, 1995).

### 2.3.2 Ciclo de vida

Cada fêmea de *Meloidogyne*, de corpo globoso e região anterior formando “pescoço”, deposita seus ovos em um único local da raiz, originando aglomerado ou massa inadequadamente referido como “ooteca”. Os ovos mantêm-se unidos devido a presença de substância gelatinosa secretada pelas glândulas retais da fêmea, que flui através do ânus durante o período de ovoposição. As massas podem ser formadas em meio ao parênquima cortical (internas) ou sobre a superfície das raízes (externas), reunindo cada uma 400 ou 500 ovos. No interior dos ovos, encontram-se juvenis do 1º estágio (J1), que logo sofrem a primeira ecdise, originando juvenis do 2º estágio (J2). Após a eclosão, esses juvenis, vermiformes e móveis, passam a

migrar no solo à procura de raízes de um hospedeiro favorável. São ditas formas pré-parasitas ou infestantes (FERRAZ e MONTEIRO, 1995).

A forma J2 irá procurar uma raiz para alimentar-se, guiada pelos exsudados da planta. Sua forma é vermiforme, cauda geralmente afilada, onde penetra normalmente próximo a capa protetora da raiz, na sua extremidade, movendo-se para o interior até o córtex. As primeiras punções do estilete são acompanhadas de secreções das glândulas esofagianas que causam um crescimento das células, levando à formação das "células gigantes" nutridoras ou sincício, pela destruição das paredes celulares, aumento do núcleo e mudanças protoplasmáticas. Ao mesmo tempo, uma intensa multiplicação celular (hiperplasia) causa o aumento das raízes, formando as galhas. As larvas, então, sofrem mudas, dando origem as J3 e J4 e, finalmente, aos adultos, machos e fêmeas (OTT, 2003).

A presença de dimorfismo sexual no gênero *Meloidogyne* faz com que as formas J3 e J4 tornem-se salsichoides e as fêmeas assumam o formato de pêra. Em se tratando de um gênero de nematóide endoparasita sedentário, as fêmeas, uma vez formadas, são incapazes de se locomoverem. Já os machos são sempre alongados, mas em menor proporção que as fêmeas (LORDELLO, 1992).

A duração do ciclo biológico é muito influenciada por fatores como temperatura, umidade e planta hospedeira, entre outros. De modo geral, completa-se em três a quatro semanas. Para *M. arenaria*, *M. incognita* e *M. javanica*, a faixa ideal de temperatura é de 25 a 30 °C, enquanto que para *M. hapla* vai de 15 a 25 °C (FERRAZ e MONTEIRO, 1995).

### 2.3.3 Controle

O controle de fitonematóides é uma tarefa difícil. Geralmente o produtor precisa conviver com o patógeno através do manejo dos níveis populacionais no solo. Métodos de controle contra nematóides tem eficiência relativa por que estes possuem tegumento pouco permeável, que lhes confere grande resistência a agentes físicos e químicos (ALCANFOR et al., 2001).

O controle de *Meloidogyne* spp. é dificultado por diferentes fatores dentre os quais destacam-se a ampla gama de hospedeiros, a qual facilita a sua sobrevivência e a presença de variabilidade genética, mesmo para as espécies partenogênicas. Para estas espécies, o grande número e cromossomos tem sido sugerido como um

forte mecanismos de variabilidade uma vez que as chances de mutação gênica são bem maiores (FREIRE et al., 2002).

Dentre as principais medidas de controle adotadas pode-se citar a inundação de solos, a utilização de culturas armadilhas como *Crotalaria* spp., rotação de culturas, plantio de cultivares resistentes, revolvimentos do solo, cultivo de culturas antagônicas, material de propagação sadio e controle químico e/ou alternativo (LORDELLO, 1992).

A propagação de material sadio constitui uma das principais medidas de controle para *Meloidogyne*, onde a produção de mudas deve ser realizada em locais isentos de nematóides, uma vez que plantas contaminadas são importantes agentes de disseminação desse patógeno e de outras doenças (EMBRAPA, 2005).

#### 2.3.4 Identificação de *Meloidogyne*

A extensa variação morfológica entre as espécies de nematóides e dentro destas dificultam suas identificações ao nível de espécies, considerando que muitas espécies de nematóides infectam círculos de hospedeiros muitos extensos. As identificações de nematóides não podem ser baseadas somente em uma ou em poucas técnicas taxonômicas, mesmo que determinada espécie possua círculo de hospedeiras relativamente curto (EISENBACK, 1982).

A identificação das espécies do gênero *Meloidogyne* é difícil, devido ao alto grau de similaridade. Entretanto, diante das síndromes de meloidoginose, tal identificação é imprescindível, para que as práticas culturais, a exemplo da rotação de culturas e do uso de variedades resistentes, entre outros, tornem-se efetivas (MOURA, 1996). Para o desenvolvimento de cultivares resistentes, bem como para a recomendação de qualquer esquema de rotação de culturas, é imprescindível primeiro que se conheça a verdadeira identidade das populações de nematóides. Altas densidades populacionais de nematóides podem ocorrer se esquemas de rotação de culturas forem elaborados sem que a prévia identificação das populações de nematóides tenha sido precisamente determinada (CHARCHAR, 1997).

Em se tratando de um gênero de nematóide de taxonomia complexa, a identificação de espécies de *Meloidogyne* é feita com base em diferentes técnicas que envolvem desde aspectos morfológicos até análises de proteínas e de DNA (HANDOO et al., 2005). No entanto, o sucesso na identificação de espécies deste

gênero muitas vezes só é conseguido mediante a utilização de diferentes técnicas em conjunto (CHARCHAR, 1997).

Dados morfológicos e morfométricos das diferentes espécies de *Meloidogyne* são obtidos mediante a extração de fêmeas, machos e formas juvenis de segundo estágio de raízes infectadas para observação e coleta de dados ao microscópio ótico. Os dados obtidos são comparados com os da literatura pertinente para a identificação da espécie (CARNEIRO e ALMEIDA, 2001). Uma outra característica morfológica importante na identificação de espécies de *Meloidogyne* é o estudo da configuração perineal de fêmeas maduras, região compreendida entre a vulva e o ânus e que contém marcas cuticulares características de cada espécie (TIHOHOD, 1989). Esta técnica é viável para aplicação em rotina, mas é dependente de um conhecimento técnico e da habilidade do operador, caso contrário erros de interpretação podem ocorrer, principalmente para espécies de configuração perineal semelhante (RANDIG et al., 2004).

A análise de proteínas solúveis é realizada por eletroforese de isoenzimas. *Meloidogyne* spp. apresentam atividade para diferentes isoenzimas, cujo fenótipo é utilizado para fins taxonômicos (KUNIEDA DE ALONSO e ALFENAS, 1998).

As proteínas são sintetizadas a partir de informações genéticas contidas no DNA e não estão sujeitas as variações ambientais e físicas. Estudos comparativos entre populações de uma mesma espécie, originárias de diversas localidades e de diferentes hospedeiros, comprovaram a estabilidade do padrão protéico. A técnica de eletroforese de proteínas em gel de poliacrilamida tornou evidente a diferenciação entre espécies dos gêneros *Anguina*, *Aphelenchus*, *Bursaphelenchus*, *Ditylenchus*, *Globodera*, *Heterodera*, *Radopholus* e *Meloidogyne* (CURRAN, 1991).

O padrão protéico pode ser determinado pela extração de proteínas específicas ou de proteína total. A complexidade da análise de proteína total dificulta a interpretação dos resultados e torna-a suscetível a erros. Com isso, o padrão de proteínas específicas é mais empregado nos estudos taxonômicos. Dentre ela, mas mais comumente estudadas são: a esterase, a malato desidrogenase, a glucose fosfatase, onde a esterase é utilizada na diferenciação das principais espécies de *Meloidogyne* (ESBENSHADE e TRIANTAPHYLLOU, 1990).

As vantagens da identificação por eletroforese de proteínas são a eficiência do método em diferenciar espécies, a rapidez e o baixo custo. Entretanto, tem as desvantagens de não ser suficiente sensível para a diferenciação de raças e de ter

que utilizar espécime do mesmo estágio de desenvolvimento nos testes comparativos – a atividade da enzima é normalmente mais baixa nos estádios juvenis e nas fêmeas maduras, e trabalha com poliacrilamida, substância tóxica utilizada na preparação dos géis de eletroforese que deve ser manuseada com precaução (MANSO e TENENTE, 1994).

O fenótipo isoenzimático para as diferentes espécies de *Meloidogyne* é obtido mediante a extração de isoenzimas de fêmeas leitosas e posterior corrida eletroforética em gel de poliacrilamida. As bandas de proteína são visualizadas com a utilização de corantes específicos para cada isoenzima e o padrão eletroforético comparado com os descritos na literatura (ESBENSHADE e TRIANTAPHYLLOU, 1990). Esta técnica, apesar de ser mais precisa que a técnica da configuração perineal, também apresenta limitações. O seu uso em rotina é questionado devido ao encarecimento do valor das análises pelo uso de reagentes mais caros e pela necessidade de laboratórios mais bem equipados. No entanto, o uso em conjunto de ambas as técnicas tem auxiliado na identificação de espécies (ROESE et al., 2001; FRANZENER et al., 2005).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram realizadas no Laboratório de Nematologia da UNIOESTE – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, campus de Marechal Cândido Rondon. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação localizada na área de cultivo protegido do Núcleo de Estações Experimentais da mesma instituição.

#### 3.1 IDENTIFICAÇÃO DE POPULAÇÕES DE *Meloidogyne* spp. EM RESERVAS LEGAIS

##### 3.1.1 Abrangência da área pesquisada

Foram visitadas Reservas Legais nos municípios de Cascavel, Marechal Cândido Rondon e Terra Roxa - Paraná, onde em cada município foram amostradas um total de cinco reservas legais aleatoriamente, totalizando assim quinze áreas. Os locais de coleta foram georeferenciados, onde as mesmas se apresentavam próximas a áreas de cultivo. Figura 01 estão os dados referentes a três matas visitadas no município de Cascavel e Figura 02 a três matas do município de Terra Roxa.



**Figura 01.** Vista aérea de três áreas amostradas no município de Cascavel – PR. Mata 01 latitude 24°58'36.62°S e longitude 53°30'45.58°O, mata 02 latitude 24°58'22.68°S e longitude 53°30'31.89°O e mata 03 latitude 24°59'47.51°S e longitude 53°29'15.18°O.

Fonte: Google Earth. Acesso em: 04/05/2010.



**Figura 02.** Vista aérea de três áreas amostradas no município de Terra Roxa – PR. Mata 01 latitude 24°7'37.15°S e longitude 54°8'23.11°O, mata 02 latitude 24°8'52.20°S e longitude 54°3'43.68°O e mata 03 latitude 24°6'0.93°S e longitude 54°4'45.4°O.

Fonte: Google Earth. Acesso em: 04/05/2010.

### 3.1.2 Coleta e identificação de plantas

Plantas hospedeiras de *Meloidogyne* spp. e com sintomas de galha no sistema radicular, foram coletadas aleatoriamente em matas nos municípios citados anteriormente, segundo a metodologia de Tihohod (1989). Após a coleta, as plantas foram acondicionadas em sacos plásticos, juntamente com solo com umidade natural, evitando que ficassem secas até a chegada ao laboratório. A parte aérea das plantas foi retirada para classificação botânica, herborizada e seca em estufa a 70 °C por 96 horas, onde após foram feitas exsiccatas para identificação.

A identificação dos materiais coletados foi feita no Laboratório de Botânica da UNIOESTE - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, campus de Marechal Cândido Rondon.



### 3.1.3 Identificação de *Meloidogyne* spp.

#### 3.1.3.1 Identificação de *Meloidogyne* spp. pela técnica da configuração da região perineal

Fêmeas maduras de *Meloidogyne* spp. foram extraídas de galhas encontradas em raízes de plantas ao qual apresentavam sintomas de infecção, depositadas em recipiente contendo ácido láctico a 45% e trabalhadas em lupa para a obtenção de cortes perineais. Posteriormente confeccionou-se lâminas simipermanentes com glicerina, contendo os cortes perineais adquiridos, seladas com esmalte e observadas em microscópio ótico para identificação de espécies. Cada lâmina continha 10 cortes perineais, sendo representativa da coleta feita em uma espécie botânica. A identificação de espécies foi feita com base em observações ao microscópio ótico e comparação dos cortes obtidos com aqueles descritos em literatura para as diferentes espécies de *Meloidogyne* (HARTMAN e SASSER, 1985).

#### 3.1.3.2 Identificação de *Meloidogyne* spp. pelo fenótipo isoenzimático para esterase

Para a realização da análise isoenzimática, seguiu-se a metodologia proposta por Alfenas et al. (1998), onde 07 fêmeas maduras foram coletadas de raízes com sintomas de galhas ao microscópio estereoscópio, e então maceradas em 10  $\mu$ L de solução extratora. Após, foi realizada a corrida eletroforética durante 01 hora e 10 minutos, a 4°C em aparelho vertical modelo MGV – 202 (Biosystems), com gel de poliacrilamida na concentração de 8,23%. Após a corrida, o gel foi retirado das placas de vidro e repassado em uma bandeja plástica contendo solução tampão fosfato de sódio pH 6,2 para lavagem e mantido sob leve agitação. Depois da lavagem do gel, o tampão fosfato foi descartado, adicionando solução contendo os corantes Fast Blue RR e  $\alpha$ -naftil acetato, e o gel foi incubado por aproximadamente 15 minutos a 30°C, até o aparecimento das bandas. Com as bandas de esterase já coradas, a solução corante foi descartada, sendo adicionada solução para descoloração do mesmo, composta por etanol absoluto, ácido acético glacial e água destilada, e após adicionado solução para secagem ao qual continha glicerina, metanol e água destilada, e o padrão de bandas fotodocumentado.

## 3.2 PARASITISMO DE *Meloidogyne* spp. EM PLANTAS NATIVAS

### 3.2.1 Identificação de *Meloidogyne* spp. em mudas

Mudas de plantas nativas da região Oeste do Paraná, pertencentes a 32 espécies distintas, e com diagnóstico de problema fitossanitário, foram cedidas pelo Núcleo de Estações Experimentais da UNIOESTE (Tabela 01). O sistema radicular destas plantas foi analisado cuidadosamente quanto à presença de galhas, onde as plantas foram retiradas dos recipientes nos quais estavam presentes e o sistema radicular foi posteriormente lavado e analisado. As mudas que não apresentaram sintomas de infecção natural foram posteriormente inoculadas.

Para identificação de qual espécie de *Meloidogyne* estava infectando naturalmente as mudas, foram extraídas fêmeas e identificadas por configuração da região perineal (HARTMAN e SASSER, 1985) e fenótipo para a isoenzima esterase (ALFENAS et al., 1998).

**Tabela 01.** Plantas nativas do Oeste do Paraná avaliadas com relação ao parasitismo de *Meloidogyne* spp.

Nome Comum	Nome Científico	Família
Açoita-cavalo	<i>Luehea candicans</i> Mart.	Tilaceae
Amendoim	<i>Pterogyne nitens</i> Tul.	Caesalpinaceae
Araçá	<i>Psidium cattleianum</i> Sabine	Myrtaceae
Ariticum-comum	<i>Rollinia mucosa</i> (Jacq.) Baill.	Annonaceae
Aroeira-vermelha	<i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi.	Anacardiaceae
Canela-de-veado	<i>Galipea jasminiflora</i> (A.St.-Hil) Engler	Rutaceae
Canela-do-brejo	<i>Endlicheria paniculata</i> (Spreng) J.F. Macbr	Lauraceae
Canjerana	<i>Cabralea canjerana</i> (vell.) Mart.	Meliaceae
Caroba	<i>Jacarandá micrantha</i> Cham	Bignoniaceae
Cedro	<i>Cedrelo fissilis</i> Vell.	Meliaceae
Cereja	<i>Eugenia involucrata</i> DC.	Myrtaceae
Farinha-seca	<i>Peltophorum dubium</i> (Spreng.) Taub.	Caesalpinaceae
Guajuvira	<i>Patagonula americana</i> L.	Boraginaceae
Guatambu-vermelho	<i>Aspidosperma subicanum</i> Mart.	Apocynaceae
Ingá-miúdo	<i>Inga laurina</i> (Sw.) Willd	Leguminosae-Mimosoideae
Ipê-amarelo	<i>Tabebuia chrysotrycha</i> (Mart. ex. A.DC.) Standl	Bignoniaceae
Ipê-rosa	<i>Tabebuia heptaphylla</i> (Vell.) Toledo	Bignoniaceae
Ipê-roxo	<i>Tabebuia impetiginosa</i> (Mart. ex DC.) Standl.	Bignoniaceae
Jacarandá-mimoso	<i>Machaerium villosum</i> Vogel	Fabaceae Faboideae
Jaracatiá	<i>Jaracatia spinosa</i> (Aubl.) A. DC.	Caricaceae
Jequitibá	<i>Cariniana rubra</i> Gardner ex Miers	Lecythidaceae
Jenipapo	<i>Genipa infudiboliformis</i> D.C. Zappi & J. Semir	Rubiaceae
Louro-branco	<i>Bastardiopsis densiflora</i> (Hook.et Arn.) Hassl.	Malvaceae
Pau-marfim	<i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engl.) Engl.	Rutaceae
Marmeleiro	<i>Ruprechtia laxiflora</i> Meisn	Polygonaceae
Paineira	<i>Chorisia speciosa</i> A. St.-Hil.	Bombacaceae
Palmeira-real	<i>Archontophoenix alexandre</i> H. Wendl. & Drude	Arecaceae
Pau-ferro	<i>Caesalpinia férrea</i> Mart. Ex. Tul.var. <i>leisostachya</i> Benth.	Caesalpinaceae
Sete-capotes	<i>Campomanesia guazumaefolia</i> (camb.) Berg	Myrtaceae
Tarumã-branco	<i>Citharexylum myrianthum</i> Cham	Verbenaceae
Uvaia	<i>Eugenia pyriformis</i> Cambess	Myrtaceae
Vacum	<i>Allophylus edulis</i> (St.Hil.) Radlk	Sapindaceae

### 3.2.2 Obtenção de populações de *Meloidogyne* spp

As populações de *Meloidogyne* utilizadas neste estudo foram obtidas de duas formas. *M. incognita* raça 03 foi obtido através de plantas de algodão, cedidas pela empresa COODETEC – Centro de Pesquisa de Cascavel – Paraná. *M. javanica* foi obtido através de amostras de plantas de tomate que foram enviadas ao laboratório de Nematologia da UNIOESTE – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, sendo as amostras provenientes do município de Terra Roxa - Paraná.

### 3.2.3 Extração de ovos/J2 de *Meloidogyne* spp. e preparo da solução de inóculo

Para a extração de ovos/J2 e obtenção do inóculo, utilizou-se da metodologia para extração de raízes (COOLEN e D' HERDE, 1972). As raízes das plantas citadas acima foram seccionadas em pedaços de aproximadamente 1 cm de comprimento e trituradas em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 0,5% em liquidificador por aproximadamente 30 segundos. Após a trituração e homogeneização, a suspensão foi passada em duas peneiras sobrepostas de 20 e 400 mesh. Pequenos fragmentos de raízes foram retidos na primeira peneira (20 mesh), sendo que os ovos e juvenis ficaram aderidos à segunda peneira, sendo recolhidos em um béquer e, posteriormente transferidos para tubetes e centrifugados por 5 minutos a 2.000 rpm. Após a primeira centrifugação, descartou-se o sobrenadante e adicionou-se solução de sacarose (densidade= 1,15 g/cm<sup>3</sup>) nos tubetes, para uma nova centrifugação, durante 1 minuto a 2.000 rpm, onde o sobrenadante ao qual estariam presentes os ovos e juvenis de *Meloidogyne* foi passado na peneira de 400 mesh e recolhidos em um béquer.

A quantificação de ovos e juvenis foi feita em lâmina de Peters, com auxílio de um microscópio ótico para posterior inoculação. Foram feitas três contagens e calculada a média presente em 1 mL. Esse valor foi multiplicado pelo volume total, determinando o número disponível de ovos/J2 para a inoculação.

### 3.2.4 Inoculação de *Meloidogyne* spp. em plantas nativas

Após a contagem e calibração, foram inoculados 5.000 ovos/J2 nas espécies inoculadas com *M. incognita* raça 03 e 3.000 ovos/J2 nas espécies inoculadas com *M. javanica* (Tabela 02). A inoculação com *M. incognita* raça 03 foi realizada durante o mês de novembro de 2008 (primavera) e com *M. javanica* durante o mês de agosto de 2009 (inverno).

Foram realizados três orifícios com o auxílio de um bastão de vidro, próximos as raízes das plantas, à 1,5 cm de distância e 5,0 cm de profundidade, onde então foi depositada a solução contendo o inóculo. As plantas inoculadas tinham em média seis meses de idade e foram cultivadas em vasos plásticos com 3 L de solo esterilizado por autoclavagem (120 °C, 1 atm, 1 h).

As plantas inoculadas foram irrigadas diariamente, suavemente, tendo cuidado para não lavar o inóculo do solo, onde de acordo com Tihohod (1989), o excesso de água nas primeiras semanas da inoculação, pode lavar o inóculo para fora do vaso. As plantas encontravam-se em casa de vegetação climatizada com temperatura de 26 °C +/- 2 °C.

**Tabela 02.** Relação das plantas inoculadas com diferentes espécies de *Meloidogyne* spp.

<b>Nome Comum</b>	<b>Espécie <i>Meloidogyne</i></b>
Açoita-cavalo	<i>M. incognita</i>
Amendoim	<i>M. incognita</i>
Araçá	<i>M. incognita</i>
Aroeira-vermelha	<i>M. incognita</i>
Canela-de-veado	<i>M. incognita</i>
Canela-do-brejo	<i>M. javanica</i>
Canjerana	<i>M. javanica</i>
Caroba	<i>M. javanica</i>
Cedro	<i>M. incognita</i>
Cereja	<i>M. incognita</i>
Guajuvira	<i>M. javanica</i>
Ingá-miúdo	<i>M. incognita</i>
Ipê-amarelo	<i>M. javanica</i>
Ipê-rosa	<i>M. javanica</i>
Ipê-roxo	<i>M. incognita</i>
Jacaranda-mimoso	<i>M. incognita</i>
Jenipapo	<i>M. javanica</i>
Louro-branco	<i>M. javanica</i>
Pau-marfim	<i>M. javanica</i>
Paineira	<i>M. incognita</i>
Palmeira-real	<i>M. incognita</i>
Pau-ferro	<i>M. javanica</i>
Sete-capotes	<i>M. incognita</i>
Uvaia	<i>M. javanica</i>
Vacum	<i>M. incognita</i>

### 3.2.5 Avaliação

As plantas inoculadas foram avaliadas em duas épocas distintas: aos 60 dias para as espécies inoculadas com *M. incognita* raça 03 e aos 90 dias para as espécies inoculadas com *M. javanica*, onde o tempo maior para avaliação se deu ao fato de que um dos fatores que afeta a duração do ciclo biológico é a temperatura (FERRAZ e MONTEIRO, 1995), sendo que as plantas inoculadas com *M. javanica* foram inoculadas no período do inverno.

As variáveis analisadas foram: contagem no número total de galhas (IG), número de ovos/J2 por sistema radicular (Ovos/SR) e o cálculo do Fator de Reprodução (FR). O cálculo do FR foi feito pela seguinte fórmula:  $FR = Pf / Pi$  (população final/população inicial) representado pela relação entre o número de ovos/J2 por sistema radicular somados (população final) e o número de ovos/J2 utilizados no inoculo (população inicial), onde FR superiores ou iguais a 1,0 indicam plantas suscetíveis (boa hospedeira), inferiores a 1,0 resistentes (má hospedeira) e iguais a 0 imunes (sem reprodução) (OOSTENBRINK,1966). Para coleta dos dados, as plantas foram cuidadosamente retiradas do substrato, tendo seus sistemas radiculares imersos em tanque com água limpa, por alguns minutos. Cuidadosamente, os sistemas radiculares foram removidos com o propósito de se obter perdas mínimas de massa de ovos. Efetuaram-se três lavagens de cada sistema radicular, onde as mesmas foram observadas com auxílio de microscópio estereoscópio para contagem do número de galhas.

Para extração dos ovos/J2 das raízes, seguiu-se a metodologia exposta anteriormente para obtenção do inoculo, de acordo com Coolen e D'Herde (1972). A contagem foi realizada em uma lâmina de Peters com auxílio de um microscópio ótico.

### 3.2.6 Análise estatística

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cada tratamento sendo representado pelas espécies inoculadas, sendo realizado dois experimentos distintos: um representado as espécies inoculadas com *M. incognita* raça 03 (experimento 01) e outro representando as espécies inoculadas com *M. javanica* (experimento 02). Cada tratamento constitui-se de cinco repetições e uma testemunha sem inóculo, juntamente com uma planta de tomate Santa Cruz "Kada", para confirmar a viabilidade do inóculo. Os valores foram transformados para  $\sqrt{X + 1}$  visando a homogeneidade das variâncias e a normalidade dos dados, aos quais foram submetidos a análise de variância pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2000), utilizando o teste de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 IDENTIFICAÇÃO DE POPULAÇÕES DE *Meloidogyne* spp. EM RESERVAS LEGAIS

As espécies de plantas que apresentaram sintomas de galha no sistema radicular coletadas em Reservas Legais estão apresentadas na Tabela 03. No município de Cascavel foram encontradas populações de *M. javanica* parasitando as plantas Falsa-serralha (*Emilia sonchifolia* (L.) DC), em duas matas visitadas e Corda-de-viola (*Ipomoea triloba* (L.) em outra mata. No município de Terra Roxa foram encontradas populações de *M. javanica* parasitando a planta Maria-pretinha (*Solanum americanum* Mill) e Quaresminha-do-brejo (*Tibouchina herbacea* (DC.) Cog.), sendo que a planta Maria-pretinha também foi encontrada sendo para parasitada por *M. incognita*. Encontrou-se uma população de *M. incognita* no município de Marechal Cândido Rondon, cuja planta hospedeira foi Rubim (*Leonurus sibiricus* L.) (Figura 03).

Pôde-se observar que as plantas coletadas nas matas foram todas plantas daninhas, o que alerta para suscetibilidade dessas plantas a *Meloidogyne* spp., uma vez que plantas daninhas podem hospedar e aumentar as populações de nematóides do solo, tornando-se importante conhecer a reação dessas plantas a este patógeno, para saber quais espécies devem ser eliminadas das áreas sob manejo de solo para o controle eficiente de nematóides (MÔNACO et al., 2008). Ao contrário dos ataques de pragas e doenças, que ocorrem normalmente por uma ou pouca espécies, a infestação de plantas daninhas é representada por muitas espécies, emergindo em épocas diferentes, dificultando sobremaneira o controle (KARAM, 2006).



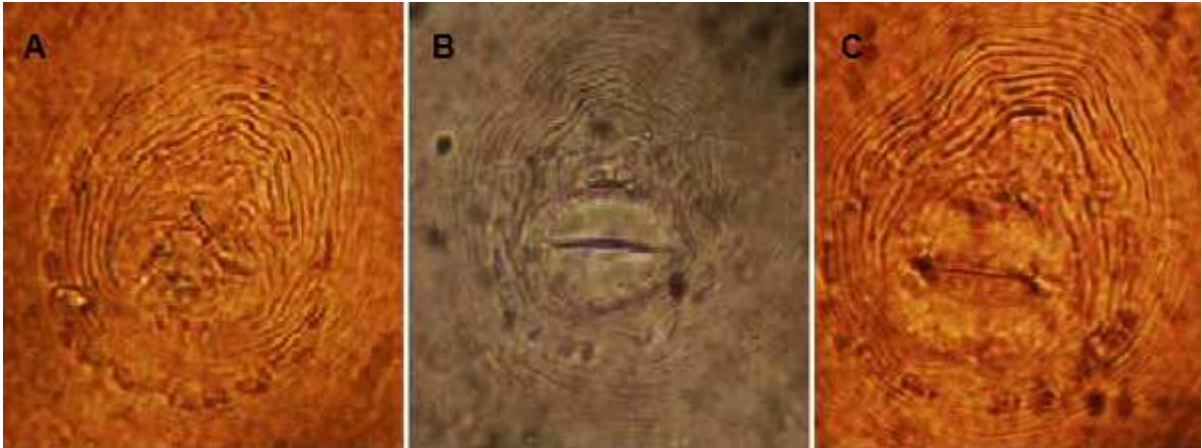
**Tabela 03.** Relação de plantas encontradas infectadas naturalmente em Reservas legais dos municípios de Cascavel, Terra Roxa e Marechal Cândido Rondon - PR

Município	Nome Comum	Nome Científico	Família de planta	Espécie de <i>Meloidogyne</i> spp.
Cascavel	Falsa-serralha	<i>Emilia sonchifolia</i> (L.) DC	Asteraceae (Compositae)	<i>M. javanica</i>
Cascavel	Falsa-serralha	<i>Emilia sonchifolia</i> (L.) DC	Asteraceae (Compositae)	<i>M. javanica</i>
Cascavel	Corda-de-viola	<i>Ipomoea triloba</i> (L.)	Convolvulaceae	<i>M. javanica</i>
Terra Roxa	Maria-pretinha	<i>Solanum americanum</i> Mill	Solanaceae	<i>M. javanica</i>
Terra Roxa	Maria-pretinha	<i>Solanum americanum</i> Mill	Solanaceae	<i>M. incognita</i>
Terra Roxa	Quaresminha-do-brejo	<i>Tibouchina herbacea</i> (DC.) Cog.	Melastomaceae	<i>M. javanica</i>
Marechal Cândido Rondon	Rubim	<i>Leonurus sibiricus</i> L.	Lamiaceae (Labiatae)	<i>M. incognita</i>

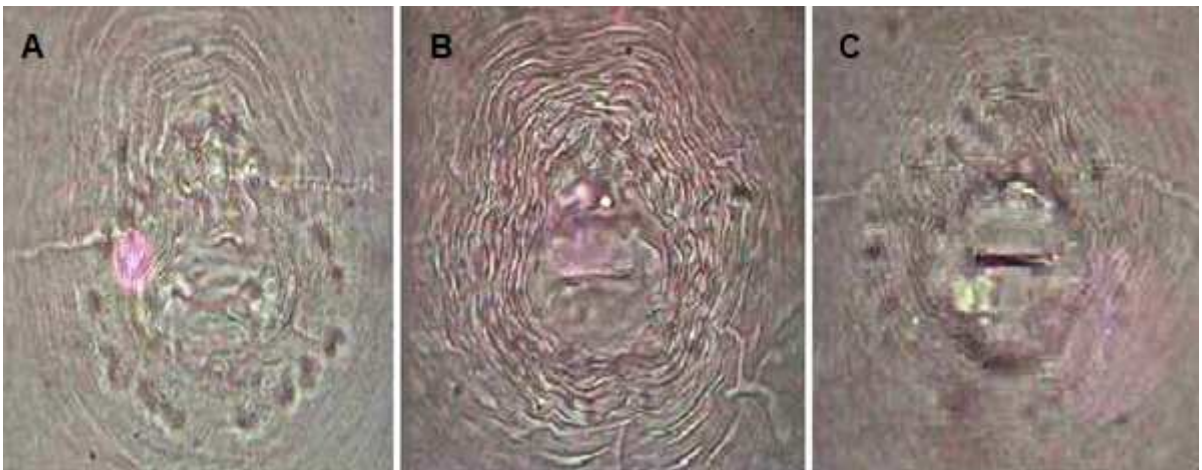


**Figura 03.** Galhas encontradas no sistema radicular da planta Rubim no município de Marechal Cândido Rondon, infectada naturalmente por *M. incognita*.

A identidade das espécies de *Meloidogyne* spp. foi confirmada através de cortes perineais, onde Figuras 04 e 05 apresentam cortes perineais em fêmeas de *Meloidogyne* nas plantas encontradas no município de Cascavel e Terra Roxa respectivamente, e através do fenótipo da isoenzima esterase (Figura 06 e 07).

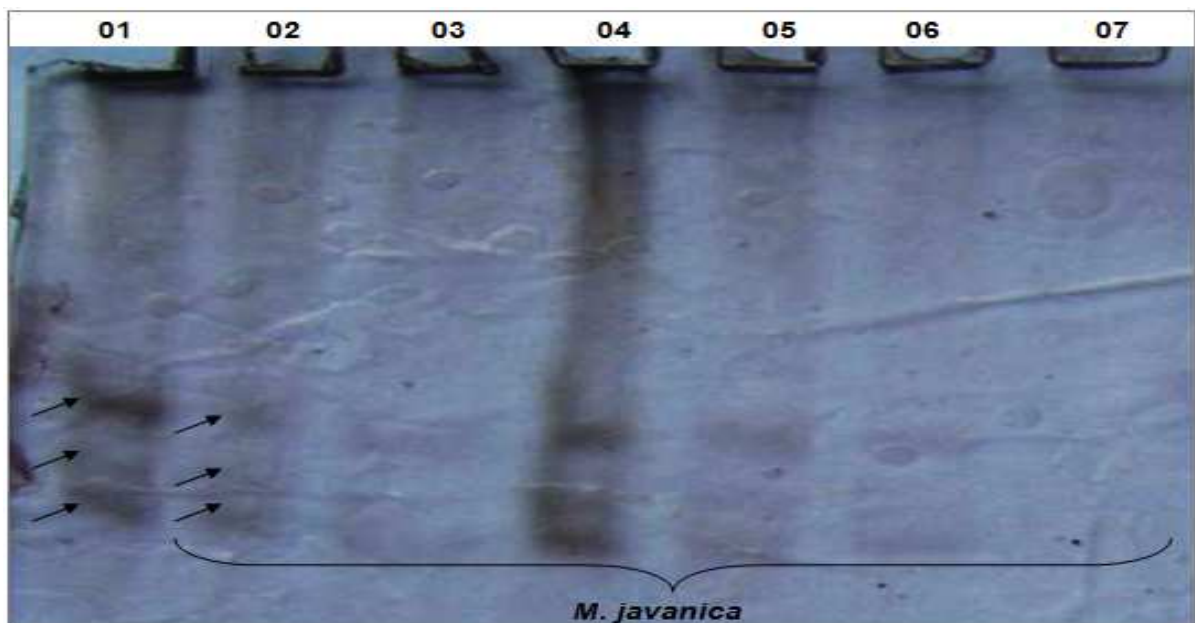


**Figura 04.** Configuração perineal em fêmeas de *Meloidogyne* spp. coletadas no município de Cascavel - PR para identificação das espécies. Figuras A e B representam *M. javanica*, encontrada parasitando a planta Falsa-serralha, e figura C representando *M. javanica* parasitando Corda-de-viola.

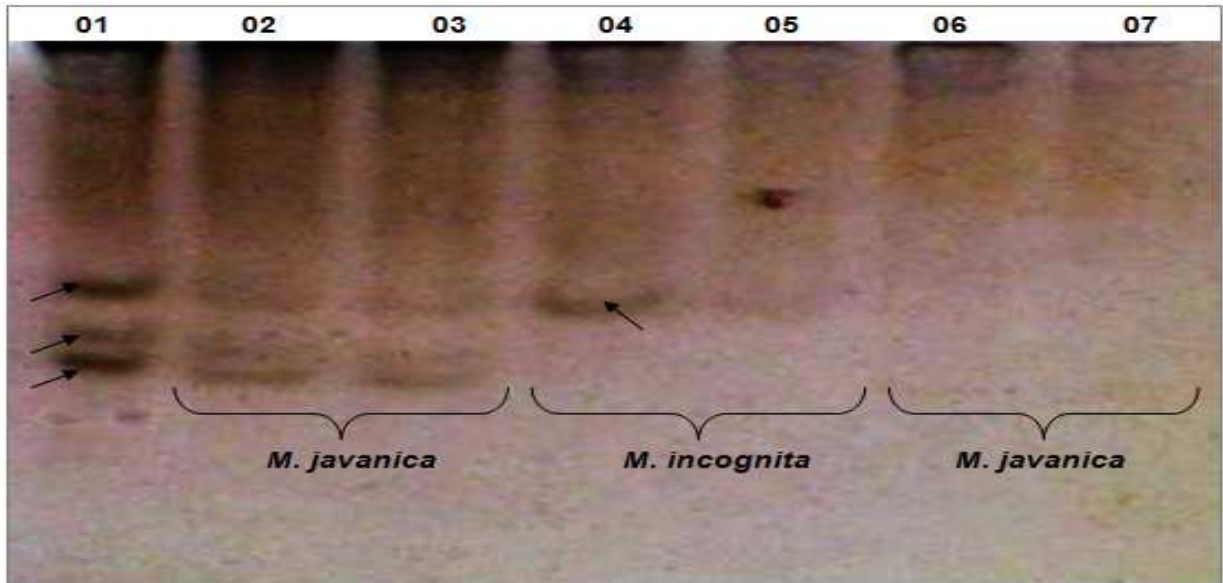


**Figura 05.** Configuração perineal em fêmeas de *Meloidogyne* spp. coletadas no município de Terra Roxa - PR para identificação das espécies. Figuras A e B representam *M. javanica* e *M. incognita* respectivamente, encontradas parasitando a planta Maria-pretinha. Figura C representa *M. javanica* parasitando a planta Quaresminha-do-brejo.

De acordo com Lordello et al. (1998), os nematóides do gênero *Meloidogyne* também são capazes de se multiplicar em plantas daninhas. Tais plantas atuam como fontes alternativas de inóculo do patógeno e garantem a sobrevivência do mesmo. Os nematóides parasitas de muitas culturas de valor econômico sobrevivem a períodos de ausência destas plantas no campo alimentando-se do sistema radicular de plantas daninhas. As plantas daninhas são caracterizadas pelo seu alto poder de disseminação, o que favorece o seu crescimento em lugares indesejáveis (SILVA et al., 2008).



**Figura 06.** Fenótipos de esterase para as espécies de plantas encontradas com sintomas de galhas no município de Cascavel – PR. *M. javanica*, utilizada como padrão no primeiro poço. Poços 02, 03, 04 e 05 apresentam as amostras de fêmeas de *Meloidogyne* spp. retiradas para análise da planta Falsa-serralha. Poços 06 e 07 representam as fêmeas da planta Corda-de-viola.



**Figura 07.** Fenótipos de esterase para as espécies de plantas encontradas com sintomas de galhas no município de Terra Roxa – PR. *M. javanica*, utilizada como padrão no primeiro poço. Poços 02, 03, 04 e 05 apresentam as amostras de fêmeas de *Meloidogyne* spp. retiradas para análise da planta Maria-pretinha . Poços 06 e 07 representam as fêmeas da planta Quaresminha-do-brejo.

Os estudos com plantas daninhas, avaliando a suscetibilidade aos nematóides do gênero *Meloidogyne* são antigos. Ponte (1968) publicou uma lista de hospedeiros de *Meloidogyne*, encontrados no estado do Ceará, relatando entre estes, plantas daninhas. Huang e Cupertino (1976) realizaram um levantamento de fitonematóides, em áreas cultivadas do Distrito Federal e estado de Goiás. Entre as plantas envolvidas encontravam-se plantas daninhas parasitadas por *M. incognita* e *M. javanica*. Um outro estudo foi realizado por Antonio e Lehman (1978), também relatando sobre a ocorrência de *Meloidogyne* em plantas daninhas. Neste trabalho, os autores observaram a ocorrência da planta Falsa-serralha como hospedeira de *M. incognita* e *M. javanica*, no município de Ponta Grossa – PR, onde a mesma foi encontrada no presente trabalho sendo parasitada por *M. javanica* no município de Cascavel - PR.

Mônaco et al. (2008) avaliaram a reação de diferentes espécies de plantas daninhas a *M. paranaensis*, onde Falsa-serralha apresentou-se resistente a este nematóide. Porém, neste mesmo trabalho relata-se que esta espécie de planta apresentou-se com um Fator de Reprodução (FR) de 0,3, indicando que houve reprodução do nematóide, não podendo ser classificado então como uma planta

imune. Assim, pode-se concluir que nesta planta o nematóide apresentou uma reprodução baixa, o que pode indicar que a mesma é hospedeira, porém não suscetível. No presente estudo, não foi possível calcular o FR, pois não havia conhecimento da população inicial, sendo possível assim, somente indicar quais plantas foram hospedeiras destes nematóides e identificar populações existentes do gênero *Meloidogyne*. Desta forma, observa-se a planta Falsa-serralha é hospedeira para *M. incognita*, *M. javanica* e *M. paranaensis*, porém para esta última espécie de *Meloidogyne*, os dados obtidos por de Mônaco et al. (2008) indicam que a mesma é uma planta que pode ser considerada resistente.

No trabalho de Mônaco et al. (2009), esta espécie de planta (Falsa-serralha) foi avaliada quanto ao parasitismo de *M. incognita* raça 01, *M. javanica* e *M. paranaensis*, a qual apresentou-se como imune para a *M. incognita* raça 01 e *M. javanica*, e com um FR de 0,020 para *M. paranaensis*, sendo classificada como resistente.

De acordo com Mônaco et al. (2008) dados opostos podem ocorrer, e as diferenças observadas para a mesma espécie de planta daninha podem ser devido duas hipóteses: variabilidade intra-específica das plantas daninhas ou variação fisiológica em *Meloidogyne* (existência de raças fisiológicas), fato já observado também por Taylor e Sasser (1978).

Otoboni (2006) destaca que em áreas destinadas para o plantio de café, plantas daninhas como a Corda-de-viola devem ser eliminadas, pois são plantas suscetíveis a *Meloidogyne*. No trabalho de Mônaco et al. (2008), os autores alertam para esta espécie de planta, pois está destacada como sendo uma das plantas que apresentaram maior potencial de incremento populacional para *M. paranaensis*, tendo apresentado um FR de 36,1, sendo considerada então uma planta altamente suscetível. Roese e Oliveira (2004) também classificaram esta planta daninha como suscetível à *M. paranaensis*.

Os dados se confirmam no trabalho de Antonio e Lehman (1978), onde plantas desta família foram encontradas nos municípios de Londrina e Ponta Grossa – PR, sendo parasitadas por *M. arenaria* e por *Meloidogyne* spp., Esses autores não identificam qual espécie deste gênero estaria parasitando esta planta no município de Londrina. Esta espécie também é citada como uma das principais plantas daninhas que hospedam *M. incognita* (EMBRAPA, 2003). Assim, pode-se verificar que as espécies pertencentes a esta família em sua maioria são

hospedeiras de *M. paranaensis*, *M. arenaria*, e *M. javanica* e *M. incognita*, alertando assim sua alta suscetibilidade a este gênero de nematóide. Esses dados foram confirmados no trabalho de Mônaco et al. (2009), onde foram avaliadas espécies desta família a *M. incognita* raça 01 e raça 03 e *M. javanica*, mostrando-se todas como suscetíveis.

A planta Maria-pretinha é uma das principais plantas daninhas encontradas em lavouras de tomate, devido a dificuldades do seu controle (EMBRAPA, 2003). Não só em lavouras de tomate, como também em várias outras culturas, como destaca Santos (2010), onde o autor relata que *M. incognita* tem muitas hospedeiras, e entre elas Maria-pretinha, tornando assim difícil o controle deste nematóide em áreas que apresentem populações de *M. incognita* e esteja presente esta espécie de planta. Antônio e Lehman (1978) relatam a ocorrência desta planta sendo parasitada por *M. incognita*, no município de Santa Amélia – PR, confirmando assim a hospedabilidade desta espécie de planta a *M. incognita*

Quando avaliada referente ao parasitismo de *M. paranaensis*, encontram-se dados opostos. No trabalho de Rose e Oliveira (2004), esta espécie de planta foi classificada como suscetível, com um FR de 7,7. Já no trabalho de Mônaco et al. (2008), a mesma espécie sendo avaliada com *M. paranaensis* se mostrou resistente, havendo baixa reprodução desta espécie de *Meloidogyne*.

Como neste trabalho a planta Maria-pretinha foi encontrada sendo parasitada por *M. incognita* e *M. javanica*, pode-se dizer que a mesma é hospedeira de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. paranaensis*.

Mônaco et al. (2009) constataram que a planta Rubim é suscetível a *M. incognita* raças 01 e 03, e *M. javanica*, e se mostra resistente a *M. paranaensis*, dados confirmados no trabalho de Mônaco et al. (2008) em relação ao parasitismo de *M. paranaensis*. Neste trabalho, foi encontrada sendo parasitada por *M. incognita*, e encontrada por Antonio e Lehman (1978) sendo parasitada por *M. javanica* nos municípios de Cruz Alta – RS e Santa Mariana – PR . Desta forma, Rubim é hospedeira de *M. incognita*, *M. javanica*, e *M. paranaensis*, sendo que para esta espécie de *Meloidogyne*, esta é classificada como resistente (Mônaco et al., 2008; Mônaco et al., 2009)

Não foram encontrados dados sobre a planta Quaresminha-do-brejo, o que impossibilita de classificá-la como suscetível ou resistente, podendo somente afirmar que a mesma é hospedeira de *M. javanica*, pois como já comentado anteriormente,

não foi possível calcular o FR devido ao fato de não ter conhecimento da população inicial, já que as mesmas foram coletadas em matas e apresentaram infecção natural.

#### 4.2 PARASITISMO DE *Meloidogyne* spp. EM PLANTAS NATIVAS

Das trinta e duas espécies avaliadas, sete apresentaram infecção natural por *Meloidogyne* spp. apresentando galhas no sistema radicular. O padrão de esterase para as espécies naturalmente infectadas revelou *M. incognita* para Ariticum-comum, Jequitibá, Jaracatiá, Tarumã-branco, Guatambu-vermelho, Farinha-seca e Marmeleiro. A identidade de *M. incognita* foi comprovada através de cortes perineais (Figura 08). Antes (2008) verificou infecção natural nas espécies Tarumã-branco e Guatambu-vermelho, porém a espécie identificada foi *M. javanica*. Assim, pode-se concluir que Tarumã-branco e Guatambu-vermelho são plantas hospedeiras para as duas espécies de *Meloidogyne* (*M. incognita* e *M. javanica*). Nas plantas com infecção natural não foi possível realizar o cálculo do Fator de Reprodução (FR), pois não havia conhecimento da população inicial de nematóides. Outra planta ao qual de apresentou infectada naturalmente, e que se mostrou como hospedeira para *M. incognita* quando inoculada no trabalho de Antes (2008) foi Ariticum-comum, confirmando assim o resultado obtido neste experimento.

Assim, vinte e cinco espécies mostraram-se isentas de infecção natural por *Meloidogyne* spp, Os valores referentes às avaliações de resistência e/ou suscetibilidade encontram-se na Tabela 04 para as espécies avaliadas com *M. incognita* raça 03 (experimento 01) e Tabela 05 para as espécies avaliadas com *M. javanica* (experimento 02).

**Tabela 04.** Reação de plantas nativas isentas de infecção natural e inoculadas com *M. incognita* raça 03

<b>Planta nativa</b>	<b>IG<sup>1</sup></b>	<b>OVOS/SR</b>	<b>FR</b>	<b>Reação<sup>2</sup></b>
Ipê roxo	27,00 a	2504 a	0,500 a	R
Paineira	11,00 a	810 a	0,030 a	R
Canela-de-veado	2,00 b	60 b	0,018 a	R
Jacarandá-mimoso	0,80 b	72 b	0,014 a	R
Ingá-miudo	0,60 b	56 b	0,011 a	R
Vacum	0,60 b	44 b	0,014 a	R
Cereja	0,00 b	0 b	0,00 a	I
Sete-capotes	0,00 b	32 b	0,010 a	R
Açoita-cavalo	0,00 b	80 b	0,022 a	R
Palmeira-real	0,00 b	152 a	0,030 a	R
Araçá	0,00 b	0 b	0,00 a	I
Aroeira Vermelha	0,00 b	80 a	0,022 a	R
Cedro	0,00 b	0 b	0,00 a	I
Amendoim	0,00 b	284 a	0,056 a	R

<sup>1</sup> IG= índice de galhas; OVOS/SR= ovos por sistema radicular (população final); FR= fator de reprodução. <sup>2</sup> Segundo conceito de Oostenbrink (1966). S= suscetível, R= resistente e I= imune. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.



**Tabela 05.** Reação de plantas nativas isentas de infecção natural e inoculadas com *M. javanica*

Planta nativa	IG <sup>1</sup>	OVOS/SR	FR	Reação <sup>2</sup>
Caroba	0,63 a	72 b	0,023 a	R
Ipê-rosa	0,00 a	136b	0,040 a	R
Canela-do-brejo	0,00 a	8 b	0,002 a	R
Canjerana	0,00 a	52 b	0,021 a	R
Pau-ferro	0,00 a	0,00 b	0,00 a	I
Ipê-amarelo	0,00 a	264 a	0,087 a	R
Jenipapo	0,00 a	8 b	0,002 a	R
Louro-branco	0,00 a	120 b	0,040 a	R
Uvaia	0,00 a	8 b	0,002 a	R
Pau-marfim	0,00 a	28 b	0,009 a	R
Guajuvira	0,00 a	100 b	0,033 a	R

<sup>1</sup> IG= índice de galhas; OVOS/SR= ovos por sistema radicular (população final); FR= fator de reprodução. <sup>2</sup> Segundo conceito de Oostenbrink (1966). S= suscetível, R= resistente e I= imune. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.



**Figura 08.** Configuração perineal de *M. incognita* encontrada nas espécies naturalmente infectadas.

Comportaram-se como resistentes à *Meloidogyne incognita* raça 03 as seguintes espécies: Ipê-roxo, Paineira, Canela-de-veado, Jacoranda-mimoso, Ingá-miudo, Vacuum, Sete-capotes, Açoita-cavalo, Palmeira-real, Aroeira-vermelha e Amendoim. As espécies Araçá, Cereja e Cedro mostraram-se imunes, não havendo reprodução após a inoculação.

A produção média de ovos/J2 do nematóide *M. incognita* raça 03 variou de 0 a 12.480 e o número de galhas de 0 a 135 por planta.

Através dos resultados obtidos, verificou-se que houve diferença estatística para o índice de galhas (IG), onde as espécies Ipê-roxo e Paineira mostraram-se superiores aos demais tratamentos. Quando observada a população final (Ovos/SR), observa-se que houve diferença estatística entre mais espécies, sendo as que apresentaram maior valor Ovos/SR foram: Ipê-roxo, Paineira, Palmeira-real, Aroeira-vermelha e Amendoim. Embora tenha havido diferença entre índice de galhas e população final, não se observou diferenças estatísticas no Fator de Reprodução (FR).

As espécies Palmeira-real, Aroeira-vermelha e Amendoim não apresentaram sintoma de galhas no sistema radicular quando inoculadas, porém, após análise e contagem da população final, mostraram-se com ovos/J2 presentes, e se enquadrando estatisticamente no valor da população final como semelhantes as espécies Ipê-roxo e Paineira, ao qual mostraram-se com sintomas de galha após a inoculação e se mostraram superiores aos demais tratamentos quando analisado o índice de galhas. O mesmo fato ocorreu com Guimarães et al. (2003), avaliando o parasitismo de *M. mayaguensis* em diferentes espécies botânicas. Os autores avaliaram a espécie *Crotalaria juncea*, que se apresentou sem sintomas de galhas, porém após análise da população final a mesma mostrou-se como suscetível. Medeiros et al. (2001) avaliaram diferentes genótipos de milho ao parasitismo de *M. javanica*. Em seus resultados, os autores constataram que havia genótipos que não apresentavam sintomas de galha e no entanto apresentaram ovos em seu sistema radicular após a inoculação e após análise do FR, apresentaram-se como suscetíveis. Segundo os mesmos autores, o parasitismo de *Meloidogyne* spp. nem sempre induz a formação de galhas, o que dificulta os programas de melhoramento de genótipos, o que torna indispensável a identificação através de estudos avaliando o parasitismo para que recomendações de manejo sejam eficientes.

Antes (2008), ao avaliar o parasitismo de espécies nativas do Oeste Paranaense, detectou através de inoculações duas hospedeiras para *M. incognita*: Jenipapo e Aroeira-vermelha. Essas plantas foram avaliadas no presente estudo quanto a reação com *M. incognita* raça 03 para Aroeira-vermelha e *M. javanica* para Jenipapo.

A planta Aroeira-vermelha quando inoculada com *M. incognita*, a mesma espécie de nematóide do trabalho de Antes (2008), mostrou-se com um FR baixo, igual a 0,022, e em seu trabalho, a autora relata um FR de 2,93. Fatos como este, de dados opostos podem ocorrer, influenciado por fatores como variabilidade intra-específica de plantas, ou variações fisiológicas em *Meloidogyne* (existência de raças fisiológicas), já que no presente estudo, utilizou-se *Meloidogyne incognita* raça 03, e no trabalho de Antes (2008) não foi especificado qual raça utilizada, sendo portando, um dos fatores ao qual pode ter contribuído para esta divergência de dados.

A planta Jenipapo mostrou-se resistente neste trabalho, com um FR baixo também, de 0,002. No trabalho ao qual a mesma foi avaliada quando ao parasitismo de *M. incognita* (ANTES, 2008), a mesma teve um FR de 0,22. Desta forma, pode-se concluir que a planta é hospedeira para *M. incognita* e *M. javanica*, porém é resistente as duas espécies de nematóides.

Lima et al (2005) identificaram a planta Açoita-cavalo parasitada por *M. exigua* em áreas de Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro. A mesma planta foi avaliada neste estudo, sendo considerada como resistente a *M. incognita* raça 03. Esta espécie de planta não apresentou sintomas de galha após a inoculação com *M. incognita* (Figura 09), porém apresentou ovos/J2 no seu sistema radicular após inoculação e análise. Desta forma, pode-se dizer que a planta Açoita-cavalo é hospedeira de *M. exigua* e *M. incognita* raça 03, porém, quando avaliada quanto ao parasitismo para *M. incognita* raça 03, a mesma mostrou-se resistente.

Frazon (2009) destaca a importância de estudos com espécies nativas que são usadas para recuperação de áreas degradadas. O autor cita o uso de Araçá como uma alternativa para superar os problemas causados por nematóides em cultivos de goiabeira (*Psidium guajava* L.), destacando que danos severos em cultivos comerciais dessa planta vem sendo causados pelo nematóide *M. mayaguensis* em alguns estados do Brasil. Neste sentido, espécies de Araçás nativos podem ser utilizados como porta-enxertos, necessitando de maiores estudos visando encontrar espécies resistentes, não só a esta espécie de *Meloidogyne* como

outras também, e compatíveis para a realização da enxertia, o que é de fundamental importância para viabilizar o seu uso como alternativa no controle do nematóide.

Esta mesma espécie de planta foi avaliada neste trabalho sendo inoculada com *M. incognita* raça 03, e mostrou-se imune. Sendo assim, Araçá pode ser aplicada como alternativa de controle para lugares com problemas com *M. mayaguensis* e lugares com *M. incognita* raça 03.



**Figura 09.** Sistema radicular da planta Açoita-cavalo após inoculação com *M. incognita* raça 03.

Em relação às espécies de plantas inoculadas com *M. javanica*, Pau-ferro se comportou como imune, e as demais se comportaram como resistentes. A média de ovos/ J2 do nematóide *M. javanica* variou de 0 a 1.120 por planta, sendo menor, portanto quando comparado a média de ovos/J2 encontrados nas espécies inoculadas com *M. incognita* raça 03. O número de galhas foi baixo, sendo que somente a planta Carobá mostrou-se com sintomas de galhas no sistema radicular após inoculação, porém, quando avaliada estatisticamente quanto ao índice de galhas, a mesma não apresentou diferenças estatísticas das demais espécies.

Observando a população final (ovos/SR), a única espécie que diferiu das demais foi Ipê-amarelo, apresentando um valor superior as demais espécies. Antes (2008) identificou esta espécie de planta sendo parasitada naturalmente por *M. incognita*, porém, a autora não pode calcular seu FR, pelo fato de que esta espécie em seu trabalho apresentava-se infectada naturalmente e não teria conhecimento da população inicial, o que pode-se dizer que a mesma é hospedeira de *M. javanica*, porém apresenta resistência, e hospedeira de *M. incognita*, mas devido ao fato de

não ser apresentado seu FR, não pode-se concluir se está é resistente ou suscetível, observando assim somente que é hospedeira.

O mesmo fato ocorrido com as espécies inoculadas com *M. incognita* raça 03 se observa nas espécies inoculadas com *M. javanica*, exceto a espécie Pau-ferro, em relação a presença de galhas e a quantidade de ovos/J2 presente. Este fato confirma que embora plantas não apresentem sintomas de galhas, é possível a presença de ovos/J2 parasitando seu sistema radicular e ressalta a importância de estudos para avaliação de parasitismo em diferentes espécies de plantas, uma vez que *Meloidogyne* apresenta uma ampla gama de hospedeiros, dificultando assim seu controle.

A detecção de *Meloidogyne* em mudas de plantas nativas cultivadas em solo não estéril alerta para a necessidade de tratamento de solo utilizado na propagação de mudas. O não tratamento pode implicar na introdução de espécies de *Meloidogyne* em áreas isentas, além de contribuir para o desequilíbrio da microfauna em áreas de preservação ambiental ou de reflorestamento (ANTES, 2008)

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram encontradas sete populações de *Meloidogyne* spp. em Reservas legais nos municípios de Cascavel, Terra Roxa e Marechal Cândido Rondon, sendo identificadas as espécies *M. inconita* e *M. javanica*, parasitando plantas daninhas presentes nestas matas. Deve-se ter uma atenção grande a essas plantas, que podem servir como fonte de inóculo, e aumentar a população de nematóides deste gênero, uma vez que as espécies de importância agrícola se originaram de organismos pertencentes a ecossistemas naturais através da adaptação e possível sobrevivência.

Sete espécies nativas do Oeste paranaense apresentaram infecção natural quando avaliadas ao parasitismo de *Meloidogyne*, mostrando assim que o solo utilizado para a produção de mudas nativas encontrava-se contaminado. Isto alerta para a utilização de solo ao qual sejam realizados análises antes da utilização, evitando assim que mudas hospedeiras parasitadas por este gênero de nematóide sejam introduzidas em áreas de reflorestamento.

Das espécies avaliadas quanto ao parasitismo de *Meloidogyne* spp., deve-se levar em conta a hospedabilidade das plantas nativas a este nematóide. Estudos devem ser feitos para avaliação do parasitismo, com outras espécies de nematóides para complemento, e assim obter maiores informações que possam ser passadas aos agricultores, evitando aumento populacional e maiores problemas com este patógeno, uma vez a dispersão dos nematóides é feita em sua maioria pelo próprio homem.

## 6 CONCLUSÕES

Através dos dados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que:

As populações de *Meloidogyne* encontradas em Reservas Legais nos municípios de Cascavel, Marechal Cândido Rondon e Terra Roxa foram *M. incognita* e *M. javanica*.

Entre as plantas nativas avaliadas com relação ao parasitismo de *M. incognita* raça 03 e *M. javanica*, sete apresentaram infecção natural e as demais ao qual foram inoculadas nenhuma se apresentou suscetível.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCANFOR, D. C.; INNECO, R.; COLARES, J.S.; MATTOS, S.H. Controle de nematóides de galhas com produtos naturais. **Horticultura Brasileira**, v. 19, 2001.

ALFENAS, A.C.; BRUNE, W.; OLIVEIRA, J.R.; ALONSO, S.K., SCORTICHINI, M. Extração de proteínas para eletroforese. In: ALFENAS, A.C. (Ed). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins – fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa: UFV, cap. 2, p. 111 – 114, 1998.

AMBIENTEBRASIL. **Paraná-vegetação**, 2006. Disponível em: <http://www.ambientebrasil.com.br>. Acesso em: 23/05/2006.

ANTONIO, H.; LEHMAN, P.S. Nota sobre a ocorrência de nematóides do gênero *Meloidogyne* em algumas ervas daninhas nos estados do Paraná e do Rio Grande do Sul. **Sociedade Brasileira de Nematologia**, v.3, 1978.

ANTES, V.A. **Parasitismo de *Meloidogyne* spp. em plantas nativas do Oeste Paranaense e variabilidade genética de populações de *Meloidogyne incognita* Raça 03**. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Agronomia) Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 46p, 2008.

CARES, J.E.; BLUM, E.B.; EDNALVA, P.A. Nematologia vegetal: uma introdução. In: BLUM, L.E.; CARES, J.E.; UESUGI, C.H. (Ed). **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas**. Cap. 11, 1 ed., Brasília: Otimismo, 2006.

CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas de nematóides de galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n.1, p.35-44, 2001.

COOLEN, W.A.; D'HERDE, C.J. **A method For the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. State Agricultural Research Centre – GHENT, Belgium, 77p, 1972.

CURRAN, J. Application of DNA analysis to nematode taxonomy. In: Nickle, W.R. (Ed). **Manual of Agricultural Nematology**. New York, Marcel Dekker Inc, p. 125-143, 1991

CHARCHAR, J.M. Novos enfoques na sistemática de nematóides. In: LUZ, W.C. (Ed). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 5, p. 133-155, 1997.

EISENBACK, J.D. Description of the blueberry root-knot nematode, *Meloidogyne carolinensis* n. sp. **Journal of Nematology**. V. 14, p. 303-317, 1982.

EISENBACK, J.D. Root-knot nematode taxonomic database. Walingford: **CAB International**, 1997



EMBRAPA. 2003. **Cultivo do tomate industrial**. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial/glossario.htm>. Acesso em: 01 de julho de 2010

EMBRAPA, 2005. **Doenças causadas por nematóides na cultura do pessegueiro**. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br/portal/icNoticiaAberta>. Acesso em: 16 de agosto de 2010.

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

FERRAZ, L.C.C.B; MONTEIRO, A.R. Nematóides. In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**, v.1, 3 ed, São Paulo: Ceres, cap. 8, p. 168-201, 1995.

FERREIRA, D.F. **Análises estatísticas por meio do Sisvar para windows versão 4.0**. In: 45º Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria. UFSCcar, São Carlos, SP, p. 255-258, 2000.

FRANZENER, G.; FURLANETTO, C.; STANGARLIN, J.R.; UNFRIED, J.R. Nematóides formadores de galhas e de cisto patogênicos à cultura da soja em municípios do Oeste do Paraná. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 261-265, 2005

FRAZON, R.C. **Espécies de araçás nativos merecem maior atenção da pesquisa**. 2009. Disponível em: <http://www.grupocultivar.com.br/artigos/artigo.asp?id=971>. Acesso em: 15 de maio de 2010.

FREIRE, C. R.; DAVIDE, L. C.; CAMPOS, V. P.; SANTOS, C.D.; FREIRE, P.W. Cromossomos de três espécies brasileiras de *Meloidogyne*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.5, p. 900-903, set/out., 2002.

FREITAS L.G.; OLIVEIRA, R.D.L.; FERRAZ, S. **Introdução a Nematologia**. Viçosa: Editora UFV, 84p, 2001.

GOULART, A.; M.; C. **Diversidade de nematóides em agroecossistemas e ecossistemas naturais**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. 71p., 2007.

GUIMARÃES, L.; M.; P.; 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.

HANDOO, Z.A.; SKANTAR, A.M.; CARTA, I.K.; SCHIMIT, D.P. Morphological and molecular evaluation of a *Meloidogyne hapla* population damaging coffee (*coffea arabica*) in Maui, Hawaii. **Journal of Nematology** 37 (2). p. 136-145, 2005.

HARTMAN, K.M.; SASSER, J.N. **Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology**. In: BARKER, K.R.; CC, 1985

HENKES, L.S. A propriedade privada no século XXI. **Revista Seqüência**, v 1, n. 49, p. 113-134, 2004.

HUANG, C.S.; CUPERTINO, F.P. Nematóides fitoparasitas em áreas cultivadas do Distrito Federal e Goiás, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia**, Campinas. V. 9, p. 29-30, 1976.

KARAM, D. **Plantas daninhas na cultura do sorgo**. 2006. Disponível em: <http://www.portaldoagronegocio.com.br>. Acesso em: 20 de maio de 2010.

KUNIEDA DE ALONSO, S.; ALFENAS, A.C. Isoenzimas na taxonomia e na genética de fitonematóides. In: ALFENAS, A.C. (ed.): **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins – fundamentos e aplicações práticas**. Ed. UFV, p. 525-543, 1998.

LANGOWSKI, E. **Paraná: uma visão geral**, 2005. Disponível em: <http://www.apromac.org.br>. Acesso em: 22/05/2009.

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

LORDELLO, L.G.E. **Nematóides das plantas cultivadas**. 8º Ed. São Paulo: Nobel, 315p., 1992.

LORDELLO, R. R. A.; LORDELLO, A. I. L; DEUBER, R. Reprodução de *Meloidogyne incognita* em plantas daninhas. In: XXI **Congresso Brasileiro de Nematologia** (Resumos), p.40, 1998.

LUC, M.; SIKORA, R.A.; BRIDGE, J. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. London: CAB International, 648p. 1990.

MANSO, E.C.; TENENTE, R.V. Extração e identificação de fitonematóides. In: LUZ, W.C. (Ed). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 2, p. 265-285, 1994.

MEDEIROS, J.; E.; SILVA, P.; H.; BIONDI, C.; M.; MOURA, R.; M.; PEDROSA, E.; M.; R. Reação de genótipos de milho ao parasitismo de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**. v. 25, n. 2, p. 243-245, 2001.

MÔNACO, A. P.A.; CARNEIRO, R.G.; KRANZ, W.M.; GOMES, J.C.; SCHERER, A.; NAKAMURA, K.C.; MORITZ, M. P.; SANTIAGO, D.C. Reação de espécies de plantas daninhas a *Meloidogyne paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 4, p.279-284, 2008.

MÔNACO, A.P.A.; CARNEIRO, W.M.K.; GOMES, J.C., SCHERER, A.; SANTIAGO, D.C. Reação de espécies de plantas daninhas a *Meloidogyne incognita* Raças 1 e 3, a *M. javanica* e a *M. paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, v. 33, n. 3, p. 235-242, 2009.

MOURA, R.M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. In: LUZ, W.C. (Ed) **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 4, p. 209-244, 1996.

OOSTENBRINK, M. **Major characteristics of the relation between nematode and plants**. Mededlingen voor Landb Hoogeschool, Wageningen, v. 66, n. 4, p. 3-46, 1966

OTOBONI, C.E.M. **Nematóide: o inimigo invisível da agricultura**. 2006. Disponível em: <http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=23191>. Acesso em: 01 de julho de 2010.

OTT, A.P. **Parasitologia Agrícola**. 2003. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/agrofitossan/AGR04002/nemgalha.htm>. Acesso em 25 de maio de 2010.

PONTE, J.J. subsídios ao conhecimento de plantas hospedeiras e ao controle dos nematóides de galhas, *Meloidogyne* spp. no estado do Ceará. Bol. Soc. Cearense, **Agronomia**, v. 9, n.1, p. 1-26. 1968.

RANDIG, O.; CARNEIRO, R.M.D.G.; CASTAGNONE-SERENO, P. Identificação das principais espécies de *Meloidogyne* parasitas do cafeeiro no Brasil com marcadores SCAR-café em multiplex – PCR. **Nematologia Brasileira**, v. 28, n.2 p. 1-10, 2004.

RIBEIRO JA. Bases biológicas para a reserva legal. **Ciência Hoje**. v. 31, p.48-49, 2003.

ROESE, A.D.; ROMANI, R.D.; FURLANETTO, C.; STANGARLIN, J.R. ; PORTZ, R.L. Levantamento de doenças na cultura da soja em municípios da região Oeste do Paraná. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 5, p. 1293-1297, 2001.

ROESE, A.D.; OLIVEIRA, R.D.L. Capacidade reprodutiva de *Meloidogyne paranaensis* em espécies de plantas daninhas. **Nematologia Brasileira**, v. 28, n.2, p. 137-141. 2004.

SANTOS, A.S. **Reserva Legal**. 2006. Disponível em: [http://redebrasil.inf.br/Oartigos/reserva\\_legal.htm](http://redebrasil.inf.br/Oartigos/reserva_legal.htm). Acesso em: 29/05/2009.

SANTOS, A. 2010. **Fitopatologia**. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Disponível em: <http://www.uesb.br/utilitarios/modelos/fitopatologia.html>. Acesso em: 01 de junho de 2010.

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

SASSER, J.N.; FRECKMAN, D.W. A world perspective on nematology: the role of the society. In: VEECH, J.A.; DICKSON, D.W. (Ed). **Vistas on nematology**, Hyattsville, MD, **Society of Nematologists**, p. 7-14. 1986

SCHNEIDER, V.S.; ROCHADELLI, R.; BONILHA, R.M. Impacto socioeconômico decorrente da implementação da Reserva Florestal Legal: um estudo de caso. **Floresta**, v. 35, n.3, p. 495-499, 2005.

SILVA, A.M.A.; COELHO, I.D.; MEDEIROS, P.R.; Levantamento florístico das plantas daninhas em um parque público de Campina Grande, Paraíba, Brasil. **Biotemas**, v.21, n. 4, p. 7-14, 2008.

SILVA, J. F.V. Problemas fitossanitários da soja no Brasil com ênfase em nematóides. In: XX Congresso Brasileiro de Nematologia, Maringá, 1998. **Anais**. Maringá: UEM, 1998. p.20-21.

TIHOHOD, D. **Nematologia Agrícola Aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 372p, 1993.

TIHOHOD, D. **Nematologia Agrícola**. Jaboticabal, FCAV, 80p, 1989.

TAYLOR, A.L.; SASSER, J.N. **Biology identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.)**. North Carolina State University Graphics, Raleigh (NC) EUA. 111p. 1978.

WWWF-BRASIL, 2005. Disponível em: [http://www.wwf.org.br/natureza\\_brasileira/meio\\_ambiente\\_brasil/agricultura/agracoos\\_resultados/agr\\_solucoes\\_casesreserva](http://www.wwf.org.br/natureza_brasileira/meio_ambiente_brasil/agricultura/agracoos_resultados/agr_solucoes_casesreserva). Acesso em 25/08/2009.

YEATES, G.W.; BONGERS, T.; GOEDE, R.M.; FRECKMAN, D.W.; GEORGIEVA, S.S. Feeding habits in soil nematode families and genera – an outline for soil ecologists. **Journal of Nematology**, v. 25, n.3, p. 315-331, 1993.