

## **ESTUDO MORFOMÉTRICO, FISIOLÓGICO E ENZIMÁTICO DE UMA POPULAÇÃO DE *Rotylenchulus reniformis* ASSOCIADA A *Cucumis melo*.**

*Gustavo Rubens de Castro Torres*

Doutorando em Fitopatologia, Bolsista CAPES, Departamento de Agronomia – Área de Fitossanidade, CEP 52171-900, Recife-PE, e-mail: [gustavorctorres@yahoo.com.br](mailto:gustavorctorres@yahoo.com.br)

*Elvira Maria Régis Pedrosa*

Prof. Adjunto, UFRPE, Departamento de Agronomia – Área de Fitossanidade, CEP 52171-900, Recife-PE, e-mail: [epedrosa@ufrpe.br](mailto:epedrosa@ufrpe.br)

*Romero Marinho de Moura*

Doutor em fitopatologia, Bolsista CNPq, Departamento de Agronomia – Área de Fitossanidade, CEP 52171-900, Recife-PE, e-mail: [romeromoura@yahoo.com.br](mailto:romeromoura@yahoo.com.br)

*Vitorina Nerivânia Covello Rehn*

Doutorando em Fitopatologia, Bolsista CNPq, Departamento de Agronomia – Área de Fitossanidade, CEP 52171-900, Recife-PE

*Rui Sales Júnior*

Prof. Adjunto, ESAM, Departamento de Ciências Vegetais, CEP 59625-900, Mossoró-RN, e-mail: [jrrui@esam.br](mailto:jrrui@esam.br)

**RESUMO** – Dentre as dez espécies reconhecidas de fitonematóides pertencentes ao gênero *Rotylenchulus*, *R. reniformis* é a mais importante economicamente. Polífaga, no Brasil tem sido assinalada em culturas que constituem a base produtiva de pólos agrícolas. No entanto, a variabilidade inter e intraespecífica em populações de *Rotylenchulus* spp. tem sido pouco compreendida e estudada. A identificação de espécies de *Rotylenchulus* fundamenta-se em caracteres morfológicos de fêmeas imaturas vermiformes e na presença de machos, havendo escassez de estudos bioquímicos. O presente trabalho teve como objetivos caracterizar morfometricamente uma população de *R. reniformis* presente em área de cultivo comercial de meloeiro (*Cucumis melo*) situada no município de Baraúnas, Rio Grande do Norte; comparar os valores médios de *L*, *V* e *s* encontrados aos de outras populações caracterizadas como *R. reniformis*, provenientes de outros Estados brasileiros, norte americanos e de países africanos; determinar a raça parasitária e ajustar protocolo para definição de fenótipo a-esterásico que auxilie na caracterização da população. Os resultados confirmaram a identificação específica da população em estudo cujo intervalo de confiança dos valores médios de *L*, *V* e *s* conteve os valores médios das demais em relação as quais foi comparada. A população Baraúnas-RN foi caracterizada como raça A. Os protocolos empregados não permitiram caracterização de fenótipo a-esterásico para *R. reniformis*.

**Palavras-chave:** nematóide reniforme, caracterização específica, variabilidade, fenótipo enzimático, meloeiro.

## **MORPHOMETRIC, PHYSIOLOGIC AND ENZYMATIC STUDY OF ONE *Rotylenchulus reniformis* POPULATION ASSOCIATED TO *Cucumis melo***

**ABSTRACT** - Among ten valid species within *Rotylenchulus* genus, *R. reniformis* is the economically most important. Polyfagous, the reniform nematode has been detected associated to high value crops in Brazil. However, variability among or within *Rotylenchulus* spp. populations has been poorly understood and studied. Identification of *Rotylenchulus* species is based on morphological characters of immature females and presence of males, but there is a lack of biochemical researches. The objectives of this study were to morphometrically characterize one *R. reniformis* population associated to commercial melon (*Cucumis melo*) crop grown in Baraúnas municipality, Rio Grande do Norte State; to compare *L*, *V* and *s* mean values to the other populations characterized as *R. reniformis*, from different Brazilian and North American states, and African countries; to identify the parasitic race and to develop a protocol to define the a-esterase phenotype. The results confirmed the specific population identification focused in this research which confidence interval mean values of *L*, *V* and *s* enclosed mean values from the other populations. The Baraúnas-RN population was characterized as race A. The used protocols did not allow to characterize an a-esterase phenotype for *R. reniformis*.

**Key words:** reniform nematode, specific characterization, variability, enzymatic phenotype, melon crop.

**INTRODUÇÃO**

Nematóides pertencentes ao gênero *Rotylenchulus* Linford & Oliveira são ectoparasitos sedentários e, dentre as dez espécies reconhecidas, *R. reniformis* Linford & Oliveira é a mais importante economicamente, com ampla distribuição geográfica e gama de hospedeiras (ROBINSON *et al.*, 1997). Polífaga, segundo Soares *et al.* (2003b) tem sido encontrada associada a mais de 140 espécies vegetais, das quais, 57 são de importância econômica. No Brasil, tem sido assinalada em culturas que constituem a base produtiva de pólos agrícolas e, recentemente, Moura *et al.* (2002) detectaram, nos municípios de Mossoró e Açu-RN, áreas produtoras de melão (*Cucumis melo* L.) com reduções crescentes de produtividade associadas à presença de altas densidades populacionais de *R. reniformis*. Segundo Soares *et al.* (2003b), todas as populações encontradas até o presente no país foram referidas como *R. reniformis*, embora Soares e Santos (2000) cite que outras espécies, possivelmente *R. macrodoratus* Dasgupta, Raski & Sher e *R. anamictus* Dasgupta, Raski & Sher, também ocorram.

O conhecimento das espécies e da variabilidade inter e intraespecífica é fundamental para manejo das infestações. A exemplo do que acontece no gênero *Meloidogyne* Goeldi, a identificação das espécies e raças permite, mediante diagnóstico, estabelecer a cultura a ser explorada ou as que poderão compor plano de rotação. Ainda, segundo Eisenback *et al.* (1981), a resistência desenvolvida em uma cultivar não é necessariamente efetiva contra todas as espécies e raças.

Variabilidade em populações de *Rotylenchulus* spp. até hoje é pouco compreendida (ROBINSON, 2002) e estudada. Diferenças foram observadas em reprodução e dano causado por populações de *R. reniformis* provenientes de diferentes locais, conforme citam Robinson *et al.* (1997) e Robinson (2002). Dentre 10 populações indianas de *R. reniformis*, nove reproduziram-se em mamona (*Ricinus communis* L.), algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) e caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) sendo designadas como raça A; enquanto uma reproduziu-se apenas em caupi, denominada raça B (Dasgupta; Seshadri, 1971).

A identificação do gênero *Rotylenchulus* está fundamentada primeiramente em caracteres morfológicos de fêmeas adultas e maduras enquanto que a das espécies, em caracteres morfológicos de fêmeas imaturas vermiformes e na presença de machos (ROBINSON, 2002). No entanto, caracterização e identificação com base em métodos morfológicos podem ser dificultadas dada a con-

siderável variação dos caracteres utilizados entre indivíduos de uma espécie como ocorre em *Meloidogyne* spp. (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001).

Estudos bioquímicos, envolvendo proteínas solúveis, têm demonstrado que várias espécies de nematóides das galhas podem ser diferenciadas por meio de fenótipos enzimáticos, obtidos por eletroforese em gel de poliacrilamida (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001). Quanto ao gênero *Rotylenchulus*, há escassez de estudos bioquímicos para caracterização das espécies.

O presente trabalho teve como objetivos caracterizar morfometricamente a população de *R. reniformis* presente em área de cultivo comercial de meloeiro situada no município de Baraúnas-RN, determinar a raça parasitária e ajustar protocolo para definição de fenótipo a-esterásico que auxilie na caracterização da população.

**MATERIAL E MÉTODOS****Estudo morfométrico da população de *R. reniformis* associada a meloeiro em Baraúnas-RN**

O estudo foi realizado a partir de população de *R. reniformis* associada a plantio comercial de meloeiro, cultivar AF 646, localizado no município de Baraúnas-RN, onde foi estabelecida malha de amostragem retangular de 42×32 m composta por 64 parcelas de 6×4 m. Foram coletadas amostras de 2 kg de solo, no ponto central de cada parcela, e destas, alíquotas de 300 cm<sup>3</sup> foram destinadas a extração dos nematóides por meio da técnica de flotação centrífuga, segundo Jenkins (1964). Lâminas semipermanentes foram preparadas para confirmação da identificação específica, de acordo com os sistemas propostos por Lehman e Inserra (1990) e Robinson *et al.* (1997), e estudo morfométrico, tomando-se como base as variáveis obtidas a partir da medição de 20 espécimes; foram considerados o comprimento total do corpo (*L*), largura máxima do corpo (*Larg. Máx.*), comprimento total do corpo dividido pela largura máxima do corpo (*a*), comprimento do esôfago (*Comp. Esôf.*), comprimento total do corpo dividido pelo comprimento do esôfago (*b*), comprimento da cauda (*Cauda*), comprimento total do corpo dividido pelo comprimento da cauda (*c*), posição da vulva em relação ao término anterior do corpo (*Pos.Vulva*), posição da vulva em relação ao término anterior do corpo expresso como percentual do comprimento do corpo (*V*), distância do término anterior do corpo até o término posterior da glândula esofageana (*Glând. Esof.*), comprimento total do corpo dividido pela distância entre o término anterior do corpo até o

término posterior da glândula esofageana ( $b'$ ), distância da abertura da glândula esofageana dorsal a base do estilete (DEGO – Est.), distância da abertura da glândula esofageana dorsal a base do estilete expressa como percentual do comprimento do estilete ( $o$ ), largura do corpo na altura do ânus (Larg. Corpo Ânus), comprimento da cauda dividido pela largura do corpo na altura do ânus ( $c'$ ) e comprimento do estilete ( $s$ ) para fêmeas imaturas. Para machos foram levadas em consideração as variáveis:  $L$ , Larg. Máx.,  $a$ , Comp. Esôf.,  $b$ , Glând. Esof.,  $b'$ , distância entre a cloaca e porção mais anterior do testículo (Cloaca – Test.), distância entre a cloaca e porção mais anterior do testículo expressa como percentual do comprimento do corpo ( $T$ ), Cauda,  $c$  e  $s$ .

Os valores médios de  $L$ ,  $V$  e  $s$  da população em estudo foram comparados a aqueles pertencentes a outras populações caracterizadas por diferentes autores como *R. reniformis*, provenientes de outros Estados brasileiros, norte americanos e de países africanos. Análise das variáveis  $L$ , Pos. Vulva,  $V$ , e  $s$  foi realizada de acordo com o teste  $t$  de comparação de médias, entre a população de *R. reniformis* oriunda de meloeiro e uma população proveniente de plantio de cana-de-açúcar (híbridos de *Saccharum L. spp.*) localizado no município de Carpina, Pernambuco e identificada como *R. reniformis* por Rosa *et al.* (2003).

#### **Identificação da raça da população de *R. reniformis* associada a meloeiro em Baraúnas-RN**

Para identificação da raça, inóculo constituído por formas vermiformes (juvenis, machos e fêmeas imaturas) foi obtido por meio do método de extração de Jenkins (1964), tomando-se solo cultivado com meloeiro cv. Amarelo Ouro, mantido por 60 dias em casa de vegetação, e infectado pela população de *R. reniformis* em estudo. Foram utilizadas como diferenciadoras mamona, algodoeiro cv. Delta Pine e caupi cv. IPA 206, cultivadas individualmente em vasos e mantidas em casa de vegetação. O experimento foi realizado em delineamento do tipo inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo cada parcela constituída por uma planta.

O semeio foi sincronizado de forma que a infestação do solo fosse procedida na mesma data e a colheita ocorresse 60 dias após aplicação do inóculo (1.000 formas vermiformes/planta). Plantas de mamona, algodoeiro e caupi foram colhidas 90, 80 e 70 dias após o plantio, respectivamente.

Após a colheita, realizou-se extração de ne-

matóides do solo de acordo com Jenkins (1964) e se procedeu a contagem do total de formas vermiformes presentes no solo de cada parcela. Os sistemas radiculares foram lavados em água, pesados e submetidos à técnica de coloração descrita por Byrd *et al.* (1983). Para avaliação do desenvolvimento de *R. reniformis* utilizou-se critério adotado por Siqueira (2003), fundamentado nas diferentes formas que o fitonematóide exibe durante o ciclo de vida na planta, considerando-se quatro categorias: fêmeas vermiformes (FVE = fêmeas adultas com porção anterior do corpo no interior da raiz e sem parte posterior modificada), fêmeas adultas vermiformes com parte posterior modificada (PPM = fêmeas adultas com porção anterior no interior da raiz e parte posterior em início de modificação), fêmeas adultas totalmente reniformes sem massa de ovos (FARSO) e fêmeas adultas totalmente reniformes com massas de ovos (FARCO).

A soma entre nematóides totais extraídos do solo e presentes na raiz foi utilizada para cálculo do fator de reprodução (FR) visando determinar habilidade da população em se reproduzir nas diferenciadoras. O número total de nematóides nas raízes foi calculado e dividido pelo peso da biomassa fresca do sistema radicular para obtenção do número de nematóides por grama de raiz (N/g raiz) em cada espécie botânica. Para análise da distribuição das formas de desenvolvimento foi empregado o teste de Qui-quadrado. Análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade foram utilizados para separação dos valores médios. Os dados relativos ao número de formas de desenvolvimento do nematóide foram transformados em  $\log_{10}(x+1)$ . Adotou-se o índice de reprodução dos nematóides empregado por Dasgupta e Seshadri (1971) para identificação de raças de *R. reniformis* provenientes de populações indianas, considerando-se quatro categorias Índice de reprodução 0 = sem reprodução; 1 = aumento em população < 5.000 nematóides/ solo em vaso; 2 = aumento em população de 5.000 a 10.000 nematóides/ solo em vaso; 3 = aumento em população > 10.000 nematóides/ solo em vaso.

Após a contagem das formas vermiformes encontradas no solo de cada parcela, o total obtido foi separado de acordo com a diferenciadora de origem e utilizado como inóculo para infestação do solo cultivado com diferenciadoras distintas daquelas de onde foi obtido. O experimento foi conduzido em delineamento do tipo inteiramente casualizado em arranjo fatorial  $3 \times 2$  (origem da população  $\times$  diferenciadora distinta daquela de origem) com cinco repetições para

cada tratamento, sendo cada parcela constituída por uma planta.

#### **Protocolo tentativo para caracterização a-esterásica de população de *R. reniformis*.**

Foram conduzidos quatro ensaios com a finalidade de estabelecer protocolo capaz de revelar o padrão a-esterásico dentro de uma população de *R. reniformis*. Em cada ensaio, utilizou-se fêmeas de *Meloidogyne* spp. como testemunha positiva para a reação enzimática.

Os nematóides do gênero *Meloidogyne* foram obtidos de raízes de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cv. Santa Cruz com 65 dias de idade enquanto espécimes de *R. reniformis* foram extraídos de meloeiro cv. Amarelo Ouro com 60 dias de idade.

**Ensaio 1.** Performance do tampão de extração de proteínas segundo Carneiro & Almeida (2001) para *R. reniformis*: fêmeas jovens com coloração branco leitosa de *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood raça 1 e *R. reniformis* foram maceradas individualmente em solução contendo 1  $\mu$ L do tampão de extração (20 g de sacarose + 1 mL de Triton X-100 + 10 mL de água destilada esterilizada) e 2 mL de azul de bromofenol a 0,1% e mantidas em banho de gelo até o momento da eletroforese.

**Ensaio 2.** Estudo comparativo da maceração de nematóides através do uso isolado do tampão de extração e combinado com nitrogênio líquido: fêmeas de *M. javanica* (Treub) Chitwood e *R. reniformis*, com os mesmos padrões descritos no item acima, foram maceradas individualmente em nitrogênio líquido, seguido de imersão em 5 mL do tampão de extração. Para fins comparativos utilizou-se isoladamente o mesmo tampão de extração em outros espécimes. Em ambos processos de extração os extratos foram mantidos em banho de gelo até o momento da eletroforese

**Ensaio 3.** Efeito do número de indivíduos na concentração das proteínas: uma, cinco e dez fêmeas de *M. javanica* e *R. reniformis* foram maceradas em 3 mL do tampão de extração e mantidas em banho de gelo até o momento da eletroforese.

**Ensaio 4.** Avaliação da performance de dois tampões de extração de proteínas: uma, cinco e dez fêmeas de *M. javanica* e *R. reniformis* foram maceradas em 3 mL do tampão de extração descrito no primeiro ensaio e no tampão fosfato-mercaptoetanol (20 g de sacarose, fosfato de sódio 0,1 M pH 7,2 e mercaptoetanol 0,2 M), e mantidas em banho de gelo até o momento da eletroforese.

Eletroforese: no primeiro ensaio os extratos protéicos foram aplicados em gel de poliacrilamida contínuo a 7%. Nos demais ensaios, empregaram-se sistemas descontínuos constituídos por um gel de empacotamento a 5% e outro de separação a 8%. Os géis foram confeccionados segundo Alfenas *et al.* (1991). Como marcador, foi utilizado o azul de bromofenol. A eletroforese foi realizada a 65 V e 4°C por um período aproximado de 90 minutos.

Para revelação da enzima a-esterase, o gel foi imerso por uma hora numa solução contendo 0,1 M de tampão fosfato pH 6,5 (100 mL), 1% a-naftil acetato (50 mg) e 50 mg de fast blue RR. Em seguida, o gel foi imerso em ácido acético glacial 7% para a fixação das bandas (BACH, 1989).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Estudo morfométrico da população de *R. reniformis* associada a meloeiro em Baraúnas-RN**

Os valores médios das variáveis e parâmetros estatísticos adotados no estudo morfométrico, referentes a fêmeas imaturas e machos, encontram-se nas Tabelas 1 e 2, respectivamente. De acordo com os sistemas propostos por Robinson *et al.* (1997) e Lehman e Inseerra (1990), a população em estudo era da espécie *R. reniformis*, (Tabela 3). Embora o valor médio de *L* tenha sido ligeiramente superior (421,83) ao valor máximo considerado por Sidiqqi (1972) (420,00), os valores médios de *V* e *s* (Tabela 1) enquadraram-se perfeitamente (Tabela 3) no intervalo do referido autor. Em relação a descrição original da espécie *R. reniformis* apresentada por Linford e Oliveira (1940), os valores médios de *L* e *s* da população em estudo foram abrangidos pelo intervalo de cada variável (Tabela 1), embora o valor médio de *V* (71,59) tenha sido ligeiramente menor que o apresentado por esses autores (72,00).

O valor médio de *L* (421,83) da população oriunda de Baraúnas-RN foi abrangido pelo intervalo pertencente às populações de diferentes origens com exceção das populações provenientes de Baton Rouge, Costa do Marfim, Togo, Sudão, Etiópia e Madagascar. Verificou-se ainda tendência do intervalo de *L* da população em estudo abranger valores máximos e mínimos, superiores aos apresentados pelas populações africanas e provenientes dos Estados Unidos, exceto ao procedente de Homestead-FL, (Tabela 4). Os limites do intervalo de *L*, da população Baraúnas-RN, foram próximos aos limites da população proveniente de cana-de-açúcar Carpina-PE (Tabela 4),

Tabela 1. Mensurações de 20 fêmeas imaturas de *Rotylenchulus reniformis* de população proveniente de solo cultivado com meloeiro (*Cucumis melo*) cv. AF 646 do município de Baraúnas-RN

Variável	Média	DP	CV	IC
<i>L</i> (µm)	421,83	60,94	14,45	395,12 – 448,54
Larg. Máx. (µm)	17,61	2,45	13,89	16,54 – 18,68
<i>A</i>	24,18	3,84	15,88	22,50 – 25,86
Comp. Esóf. (µm)	105,38	21,42	20,32	95,99 – 114,77
<i>B</i>	4,12	0,85	20,58	3,75 – 4,49
Cauda (µm)	24,63	4,47	18,13	22,67 – 26,59
<i>C</i>	17,59	3,77	21,41	15,94 – 19,24
Pos. Vulva (µm)	300,60	50,81	16,90	277,75 – 323,45
<i>V</i> (%)	71,59	4,10	5,72	69,75 – 73,43
Glând. Esof. (µm)	140,45	20,63	14,69	131,41 – 149,49
<i>b'</i>	3,03	0,42	13,73	2,85 – 3,21
DEGO – Est. (µm)	17,45	1,83	10,52	16,65 – 18,25
<i>o</i> (%)	97,70	10,20	10,44	93,23 – 102,17
Larg. Corpo Ânus (µm)	10,14	2,00	19,76	9,26 – 11,02
<i>c'</i>	2,48	0,49	19,72	2,27 – 2,69
<i>s</i> (µm)	17,86	0,51	2,88	17,63 – 18,09

*L* = comprimento total do corpo, Larg. Máx. = largura máxima do corpo, *a* = comprimento total do corpo dividido pela largura máxima do corpo, Comp. Esóf. = comprimento do esôfago, *b* = comprimento total do corpo dividido pelo comprimento do esôfago, Cauda = comprimento da cauda, *c* = comprimento total do corpo dividido pelo comprimento da cauda, Pos. Vulva = distância da vulva ao término anterior do corpo, *V* = posição da vulva em relação ao término anterior do corpo expresso como percentual do comprimento do corpo, Glând. Esof. = distância entre o término anterior do corpo até o término posterior da glândula esofageana, *b'* = comprimento total do corpo dividido pela distância entre o término anterior do corpo até o término posterior da glândula esofageana, DEGO – Est. = distância da abertura da glândula esofageana dorsal a base do estilete, *o* = distância da abertura da glândula esofageana dorsal a base do estilete expressa como percentual do comprimento do estilete, Larg. Corpo Ânus = largura do corpo na altura do ânus, *c'* = comprimento da cauda dividido pela largura do corpo na altura do ânus, *s* = comprimento do estilete, DP = desvio padrão, CV = coeficiente de variação e IC = intervalo de confiança.

não sendo possível determinar se essa tendência é característica das populações brasileiras, tendo em vista não haver dados disponíveis pelo estudo realizado por Soares *et al* (2003b) em relação a variável em questão.

Segundo Ferraz (1999), entre as características de maior interesse na diagnose de espécies de

*Pratylenchus* Filipjev, algumas evidenciam muita variação, inter e/ou intra específica, e o comprimento do corpo, em geral, é maior em espécimes coletados de raízes do que de solo. Segundo aquele autor variações também podem ocorrer entre espécimes extraídos de raízes de diferentes espécies vegetais. Para Robinson (2000), variabi-

Tabela 2. Mensurações de 20 machos de *Rotylenchulus reniformis* de população proveniente de solo cultivado com meloeiro (*Cucumis melo*) cv. AF 646 do município de Baraúnas-RN

Variável	Média	DP	CV	IC
<i>L</i> (µm)	444,25	43,20	9,72	425,32 – 463,18
Larg. Máx. (µm)	16,34	1,38	8,44	15,74 – 16,94
<i>a</i>	27,27	2,48	9,08	26,19 – 28,35
Comp. Esóf. (µm)	87,73	14,10	16,07	81,55 – 93,91
<i>b</i>	5,16	0,76	14,82	4,83 – 5,49
Glând. Esof. (µm)	119,07	16,26	13,66	111,94 – 126,20
<i>b'</i>	3,78	0,51	13,62	3,55 – 4,01
Cloaca – Test. (µm)	146,68	41,25	28,13	123,34 – 170,02
<i>T</i> (%)	32,91	7,95	24,17	28,41 – 37,41
Cauda (µm)	25,33	3,39	13,40	23,84 – 26,82
<i>c</i>	17,72	1,98	11,15	16,85 – 18,59
<i>s</i> (µm)	16,29	0,62	3,82	16,01 – 16,57

*L* = comprimento total do corpo, Larg. Máx. = largura máxima do corpo, *a* = comprimento total do corpo dividido pela largura máxima do corpo, Comp. Esóf. = comprimento do esôfago, *b* = comprimento total do corpo dividido pelo comprimento do esôfago, Glând. Esof. = distância entre o término anterior do corpo até o término da glândula esofageana, *b'* = comprimento total do corpo dividido pela distância entre o término anterior do corpo até o término posterior da glândula esofageana, Cloaca – Test. = distância entre a cloaca e porção mais anterior do testículo, *T* = distância entre a cloaca e porção mais anterior do testículo expressa como percentual do comprimento do corpo, Cauda = comprimento da cauda, *c* = comprimento total do corpo dividido pelo comprimento da cauda, *s* = comprimento do estilete, DP = desvio padrão, CV = coeficiente de variação e IC = intervalo de confiança.

Tabela 3. Mensurações de 20 fêmeas imaturas de *Rotylenchulus reniformis* de população proveniente de solo cultivado com meloeiro (*Cucumis melo*) cv. AF 646 do município de Baraúnas-RN e dados referentes a populações caracterizadas por outros autores como pertencentes à espécie.

Referência	Variáveis		
	L (µm)	V (%)	s (µm)
Presente estudo	395,12 – 448,54	69,75 – 73,43	17,63 – 18,09
Robinson . (1997)	–	> 63,00	16,00 – 21,00
Lehman & Inserra (1989)	–	= 68,00	15,00 – 21,00
Siddiqi (1972)	340,00 – 420,00	68,00 – 73,00	16,00 – 18,00
Linford & Oliveira (1940)	321,00 – 432,00	72,00	16,00 – 20,00

L = comprimento total do corpo, V = posição da vulva em relação ao término anterior do corpo expresso como percentual do comprimento do corpo e s = comprimento do estilete.

lidade em populações de *Rotylenchulus* spp. é pouco compreendida e faltam estudos para distinção de variantes subespecíficos de *R. reniformis*.

Os valores médios de s e V da população em estudo estiveram contidos nos intervalos das variáveis pertencentes às populações das diversas localidades do Brasil, Estados Unidos e países africanos, exceto Togo referente a s (Tabela 4). Embora não tenha havido coincidência, valores

FL e Welasco-TX, provenientes de algodoeiro e meloeiro, respectivamente (Tabela 4). Os limites de V ficaram próximos daqueles pertencentes à população oriunda de algodoeiro cultivado em Rondonópolis-MT e de meloeiro cultivado em Welasco-TX. Limites de V em relação às populações africanas foram próximos aos pertencentes às populações de Gambia, Sudão, Etiópia e Madagascar.

Tabela 4. Mensurações de fêmeas imaturas de *Rotylenchulus reniformis* provenientes de cultivo comercial de meloeiro (*Cucumis melo*) em Baraúnas-RN e de diferentes hospedeiras cultivadas em estados brasileiros, norte americanos e países africanos.

Local	Hospedeira	<sup>a</sup> N	<sup>b</sup> s (µm)	<sup>c</sup> L (µm)	<sup>d</sup> V (%)	Referências
Baraúnas – RN	<i>Cucumis melo</i> L.	20	17,63 – 18,09	395,00 – 448,54	69,75 – 73,43	Presente estudo
Carpina – PE	<i>Saccharum</i> L. sp.	15	19,05 – 20,48	392,90 – 447,20	70,76 – 71,56	Rosa . (2003)
Guaíra-SP	<i>Gossypium hirsutum</i> L.	10	17,90 – 22,50	–	59,90 – 79,00	Soares . (2003)
Riolândia-SP	<i>G. hirsutum</i>	10	17,30 – 24,40	–	69,30 – 75,60	Soares . (2003)
Miguelópolis-SP	<i>G. hirsutum</i>	10	17,00 – 20,00	–	63,20 – 73,40	Soares . (2003)
Rondonópolis-MT	<i>G. hirsutum</i>	10	16,90 – 23,80	–	69,00 – 74,00	Soares . (2003)
Santa Helena-GO	<i>G. hirsutum</i>	10	15,20 – 18,70	–	68,70 – 72,90	Soares . (2003)
Santa Helena-GO	<i>G. hirsutum</i>	10	16,40 – 18,80	–	68,80 – 74,40	Soares . (2003)
Capela A. Alegre-BA	<i>Passiflora edulis</i> Sims	10	17,50 – 25,00	–	59,00 – 74,00	Soares . (2003)
Homestead-FL	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	9	16,30 – 18,60	381,00 – 469,00	70,00 – 74,00	Lehman & Inserra (1989)
Brownsdale-FL	<i>G. hirsutum</i>	10	16,60 – 18,60	324,00 – 423,00	70,00 – 76,00	Lehman & Inserra (1989)
Jay-FL	<i>G. hirsutum</i>	9	17,40 – 18,10	354,00 – 435,00	70,00 – 75,00	Lehman & Inserra (1989)
Baton Rouge-LA	<i>G. hirsutum</i>	11	16,20 – 18,60	352,00 – 418,00	71,00 – 76,00	Lehman & Inserra (1989)
Welasco-TX	<i>C. melo</i>	11	17,30 – 18,70	329,00 – 429,00	68,00 – 74,00	Lehman & Inserra (1989)
África do Sul	<i>Carica papaya</i> L.	3	18,00 – 20,00	350,00 – 440,00	72,00 – 81,00	Lehman & Inserra (1989)
Senegal	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill	9	16,00 – 20,00	380,00 – 430,00	69,00 – 72,00	Lehman & Inserra (1989)
Gambia	<i>C. papaya</i>	4	16,00 – 20,00	360,00 – 440,00	68,00 – 74,00	Lehman & Inserra (1989)
Costa do Marfim	<i>C. papaya</i>	13	16,00 – 18,00	350,00 – 420,00	68,00 – 75,00	Lehman & Inserra (1989)
Togo	<i>Codiaeum</i> Juss sp.	9	15,00 – 17,00	330,00 – 400,00	69,00 – 76,00	Lehman & Inserra (1989)
Sudão	<i>Ananas c omosus</i> (L.) Merr	9	16,00 – 19,00	360,00 – 400,00	68,00 – 73,00	Lehman & Inserra (1989)
Etiópia	<i>A. comosus</i>	8	16,00 – 18,00	320,00 – 390,00	68,00 – 74,00	Lehman & Inserra (1989)
Martinica	<i>A. comosus</i>	9	16,00 – 19,00	360,00 – 440,00	69,00 – 76,00	Lehman & Inserra (1989)
Madagascar	<i>Saccharum officinarum</i> L.	12	16,00 – 18,00	310,00 – 370,00	69,00 – 73,00	Lehman & Inserra (1989)

<sup>a</sup>N = número de fêmeas utilizadas nas mensurações; <sup>b</sup>s = comprimento do estilete; <sup>c</sup>L = comprimento total do corpo, <sup>d</sup>V = posição da vulva em relação ao término anterior do corpo expresso como percentual do comprimento do corpo.

mínimo e máximo do intervalo de s da população Baraúnas-RN estiveram mais próximos aos pertencentes às populações norte americanas de Jay-

Todas as populações brasileiras estudadas por Soares *et al.* (2003b) (Tabela 4) tiveram os valores médios de V abrangidos pelo intervalo da

população em estudo, embora exceções tenham ocorrido em relação a *s*. Por outro lado, os valores médios de algumas variáveis de populações dos Estados Unidos e África não foram abrangidos pelos intervalos de confiança das variáveis pertencentes a população Baraúnas-RN. São necessários estudos para verificar até que ponto as populações brasileiras podem apresentar peculiaridades quanto aos caracteres morfométricos que as distingam daquelas procedentes de outras partes do mundo.

Através do teste *t* não foi detectada diferença significativa entre a população de Baraúnas-RN e Carpina-PE em relação a *L*, Pos. Vulva e *V* (Tabela 5). No entanto, diferença significativa ocorreu entre os valores médios de *s*, embora se

que salienta a falta de estudos para distinção de variantes subespecíficos da espécie *R. reniformis*.

**Identificação de raça da população de *R. reniformis* associada a meloeiro em Baraúnas-RN**

A população de *R. reniformis* multiplicou-se em todas as diferenciadoras testadas, apresentando em cada, índices de reprodução igual a três, semelhantes a aqueles apresentados pelas populações caracterizadas por Dasgupta e Seshadri (1971) como pertencentes a raça A. O fator de reprodução em mamona foi maior ( $P=0,05$ ) do que nas demais hospedeiras (Tabela 6), mesmo quando realizada a infestação cruzada (Tabela 7), confirmando a alta hospedabilidade da mamona, enquanto algodoeiro e caupi favoreceram a repro-

Tabela 5. Análise dos valores médios de *L*, Pos. Vulva, *V* e *s* pelo teste *t* de comparação de médias entre população de *Rotylenchulus reniformis* procedente de cultivo comercial de meloeiro (*Cucumis melo*), em Baraúnas-RN e de cana-de-açúcar (híbridos de *Saccharum* sp.) em Carpina-PE.

Variável	Médias		<i>t<sub>c</sub></i>	<i>t<sub>t</sub></i>
	População Baraúna-RN	População Carpina-PE		
<i>L</i> (µm)	421,83	395,84	1,58	2,03 ns
Pos. Vulva(µm)	300,60	281,70	1,39	2,04 ns
<i>V</i> (%)	71,59	71,16	0,38	2,04 ns
<i>s</i> (µm)	17,86	19,76	7,04	2,03 **

*L* = comprimento total do corpo, Pos. Vulva = distância da vulva ao término anterior do corpo, *V* = posição da vulva em relação ao término anterior do corpo expresso como percentual do comprimento do corpo, *s* = comprimento do estilete, *t<sub>c</sub>* = valor de *t* calculado, *t<sub>t</sub>* = valor de *t* tabelado ( $P = 0,05$ ).

enquadrem na chave proposta por Robinson *et al.* (1997), à qual ambas foram submetidas. A diferença existente pode ser justificada através de citação feita por Ferraz (1999) que ressaltou a dificuldade de se visualizar com exatidão a extremidade apical do estilete, associada à grande proporção assumida por erros ocorrentes em mensurações de estruturas tão pequenas. Em adição, é válido considerar a citação de Robinson (2002),

dução do nematóide reniforme em nível mais baixo.

Os resultados obtidos com o teste de Qui-quadrado demonstraram existir diferença significativa na distribuição de frequência das formas de desenvolvimento de *R. reniformis* em função da diferenciadora, o que foi confirmado pela análise de variância (Tabela 6).

Tabela 6. Fator de reprodução, número de nematóides por grama de raiz e distribuição das formas de desenvolvimento de população *Rotylenchulus reniformis* obtida a partir de mamona (*Ricinus communis*), algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) cv. Delta Pine e caupi (*Vigna unguiculata*) cv. IPA 206, 60 dias após a infestação do solo.

Indicadora	<sup>a</sup> FR	<sup>b</sup> N/g raiz	Formas de desenvolvimento			
			<sup>c</sup> FVE	<sup>d</sup> PPM	<sup>e</sup> FARSO	<sup>f</sup> FARCO
Mamona	747,03 A	28 B	208 A	9.123 A	1.975 A	0 A
Algodoeiro	121,85 B	47 B	39 A	873 B	286 B	26 A
Caupi	136,86 B	172 A	67 A	3.343 AB	346 B	5 A

Para análise estatística os dados foram transformados para  $\log_{10}(x+1)$ , sendo apresentados os dados originais. Na mesma coluna, médias seguidas por mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. <sup>a</sup>FR = Fator de reprodução (Pf/Pi), <sup>b</sup>N/g raiz = nematóides por grama de raiz <sup>c</sup>FVE= fêmeas vermiformes, <sup>d</sup>PPM = fêmeas vermiformes com parte posterior modificada, <sup>e</sup>FARSO = fêmeas adultas totalmente reniformes sem massas de ovos e <sup>f</sup>FARCO = fêmeas adultas totalmente reniformes com massa de ovos.

Verificou-se que dentre as diferenciadoras, a mamona, provavelmente por se tratar de hospedeira mais adequada ao desenvolvimento da população em estudo e dispor de maior sistema radicular, ofereceu condições para que maior número de nematóides completasse mais rapidamente o ciclo de vida, fazendo com que mais fêmeas imaturas penetrassem nas raízes e atingissem mais rapidamente o estágio adulto, assegurando maior número de FARSO em mamona do que nas outras diferenciadoras. Segundo Robinson *et al.* (1997), a duração dos eventos envolvidos no desenvolvimento varia com a espécie de *Rotylenchulus*, temperatura e hospedeira, havendo relato que o ciclo de vida pode ser menor que três semanas ou maior que dois anos se a hospedeira não estiver presente e o solo permanecer seco. Em quiabeiro (*Hibiscus esculentus* L.), o ciclo de *R. reniformis* de ovo a ovo requer 24 a 29 dias, em algodoeiro 17 a 23 dias e em soja (*Glycine max* (L.) Merrill.) 19 dias a 29,5 °C (SCHMITT; NOEL, 1984). A ausência de FARCO em raízes de mamona juntamente com o elevado fator de reprodução (747,43) reforça a possibilidade de ocorrência de ciclo mais rápido (Tabela 6).

O fato do número de nematóides por grama de raiz em mamona ter sido significativamente menor que em caupi (Tabela 6), ao contrário do que ocorreu com o fator de reprodução, pode ser resultante da capacidade diferenciada da espécie botânica em suportar o parasitismo. A população originária de mamona demonstrou habilidade de se desenvolver em algodoeiro e caupi (Tabela 7).

Tabela 7. Fator de reprodução, número de nematóides por grama de raiz e distribuição das formas de desenvolvimento de populações de *Rotylenchulus reniformis* obtidas a partir de mamona (*Ricinus communis*), algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) cv Delta Pine e caupi (*Vigna unguiculata*) cv IPA 206 e infestadas em diferenciadoras distintas da diferenciadora de origem, 60 dias após a infestação do solo.

Origem da população	Indicadora Infestada	<sup>a</sup> FR	<sup>b</sup> N/g raiz	Formas de desenvolvimento			
				<sup>c</sup> FVE	<sup>d</sup> PPM	<sup>e</sup> FARSO	<sup>f</sup> FARCO
Mamona	Algodoeiro	8,13 A	34 A	0 A	1.225 A	44 B	0 A
	Caupi	11,16 A	45 A	0 A	1.261 A	327 A	2 A
Algodoeiro	Mamona	30,01 A	17 A	107 A	1.315 A	312 A	0 A
	Caupi	5,56 B	19 A	0 A	454 A	172 A	1 A
Caupi	Mamona	21,47 A	6 A	84 A	605 A	351 A	0 A
	Algodoeiro	5,53 B	16 A	2 A	574 A	39 B	4 A

Para análise estatística os dados foram transformados para  $\log_{10}(x+1)$ , sendo apresentados os dados originais. Na mesma coluna, médias seguidas por mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. <sup>a</sup>FR = fator de reprodução, <sup>b</sup>N/ g de raiz = nematóides por grama de raiz <sup>c</sup>FVE= fêmeas vermiformes, <sup>d</sup>PPM = fêmeas vermiformes com parte posterior modificada, <sup>e</sup>FARSO = fêmeas adultas totalmente reniformes sem massas de ovos, <sup>f</sup>FARCO = fêmeas adultas totalmente reniformes com massa de ovos.

Comportamento semelhante foi observado em população oriunda de algodoeiro e de caupi. Ten-

do em vista a infestação cruzada não ter evidenciado diferença de habilidade da população de *R. reniformis* parasitar as diferentes espécies botânicas, é pouco provável a possibilidade de mistura com a raça B.

#### Protocolo tentativo para caracterização a-esterásica de população de *R. reniformis*.

Em todos os ensaios os padrões de bandas de a-esterase das espécies de *Meloidogyne* se mantiveram como descrito por Eisenback *et al.* (1981) comprovando a funcionalidade dos sistemas, mas não foi verificada atividade a-esterásica para *R. reniformis*.

#### CONCLUSÕES

A população de fitonematóides pertencente ao gênero *Rotylenchulus*, infestante de cultivo comercial de meloeiro situado no município de Baraúna-RN, pertencia à espécie *R. reniformis*.

A população de *R. reniformis* em estudo apresentou características morfométricas próximas às das populações descritas no Brasil, Estados Unidos e países africanos.

As variáveis morfométricas comprimento total do corpo, posição da vulva em relação ao término anterior do corpo expresso como percentual do comprimento do corpo e comprimento do estilete apresentaram variabilidade em função do local de origem da população de *R. reniformis*, embora todas as populações, incluindo a do presente estudo, sejam da mesma espécie.

A população de *R. reniformis* em estudo não diferiu quanto aos valores médios de *L*, Pos. Vul-

va e *V* da população proveniente do município de Carpina, Pernambuco, deferiram significativa-

mente apenas em relação ao valor médio de *s*.

A população de *R. reniformis* proveniente de cultivo comercial de meloeiro situado em Baraúnas-RN é da raça A.

Não foi verificada atividade a-esterásica para *R. reniformis*.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A. C.; PETERS, L.; BRUNE, W.; PASSADOR, G. C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1991. 242p.

BACH, E. E. Utilização da eletroforese no estudo de alterações enzimáticas na interação planta-patógeno. In: I ENCONTRO SOBRE APLICAÇÕES DE ELETROFORESE NA AGROPECUÁRIA, 1, 1989, Nova Odessa. **Anais...**, p.1-4.

BYRD, D. W. Jr.; KIRKPATRICK, T. & BARKER, K. R. An improved technique for clearing and staining plant tissue for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, Hanover, v.15, p.142-143. 1983.

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

DASGUPTA, D. R.; SESHADRI, A. R. Races of the reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis* Linford and Oliveira, 1940. **Indian Journal of Nematology**, New Delhi, v.1, p.21-24. 1971.

EISENBACK, J. D.; HIRSCHMANN, H.; SASSER, J. N. & TRIANTAPHYLLOU, A. C. **A guide to the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species): with a pictorial key**. Raleigh: International *Meloidogyne* Project, 1981. 48p.

FERRAZ, L. C. C. B. Gênero *Pratylenchus* – os nematóides das lesões radiculares. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.7, p.157-195. 1999.

JENKINS, W. R. A. Rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v.48, p.692. 1964.

LEHMAN, P. S.; INSERRA, R. N. Morphometric variation of *Rotylenchulus parvus* and *Rotylenchulus reniformis* populations in Southern United States. **Soil and Crop Science Society of Florida Proceedings**, [sl], v.49, p.220-226. 1989.

LINFORD, M.B.; OLIVEIRA, J. M. *Rotylenchulus reniformis*, nov. gen., n. sp., a nematode parasite of roots. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, [sl], v.7, p.35-42. 1940.

MOURA, R.M.; PEDROSA, E. M. R.; GUIMARÃES, L. M. P. Nematoses de alta importância econômica da cultura do melão no estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v.27, p.225. 2002.

ROBINSON, A. F. Reniform nematodes: *Rotylenchulus* species. In: STARR, J. L.; COOK, R.; BRIDGE, J. (eds.). **Plant Resistance to Parasitic Nematodes**. New York: CABI Publishing, 2002. p.153-173.

ROBINSON, A. F.; INSERRA, R. N.; CASWELL-CHEN, E. P.; VOVLAS, N. & TROCOLI, A. *Rotylenchulus* species: identification, distribution, host range, and crop plant resistance. **Nematropica**, Florida, v.27, p.127-180, 1997.

ROSA, R. C. T.; MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R. & CHAVES, A. Ocorrência de *Rotylenchulus reniformis* em cana-de-açúcar no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.27, p.93-95, 2003.

SCHMITT, D. P.; NOEL, G. R. Nematode parasites of soybeans. In: NICKLE, W. R. **Plant and Insect Nematodes**. New York & Basel: Marcel Dekker, 1984. p.13-59.

SIDDIQI, M. R. *Rotylenchulus reniformis*. In: WILLMOTT, S.; GOOCH, P. S.; SIDDIQI, M. R.; FRANKLIN, M. C.I.H. **Descriptions of Plant-parasitic Nematodes**, London: William Clowes & Sons Ltd., v.5, p.1-2, 1972.

SIQUEIRA, K. M. S. **Associações entre nematóides, rizóbios e fungos micorrízicos arbusculares em caupi, feijoeiro comum e meloeiro**. 2003. 91f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2003.

SOARES, P. L. M.; SANTOS, J. M.. Variabilidade

---

de morfológica e bioquímica em populações de *Rotylenchulus* Linford & Oliveira, 1940 do Brasil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.26, p.101. 2000.

SOARES, P. L. M.; SANTOS, J. M. & FERRADURO, A. S. Morfometria de populações brasileiras de *Rotylenchulus reniformis* (Nemata: Rotylenchulinae). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.29, p.58-59. 2003a.

SOARES, P. L. M.; SANTOS, J. M. & LEHMAN, P. S. Estudo morfométrico comparativo de populações de *Rotylenchulus reniformis* (Nemata: Rotylenchulinae) do Brasil. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v.28, p.292-297. 2003b.