

Caracterização molecular de populações de *Meloidogyne enterolobii* e *M. konaensis* no estado do Ceará, Brasil

Francisco Jorge Carlos de Souza Junior^{[1]*}, Aglaíso Bispo Milfont Neto^[2], Mayara Castro Assunção^[3]

^[1] jorgeldp2011@gmail.com. Instituto Centro de Ensino Tecnológico (CENTEC), Fortaleza, Ceará, Brasil

^[2] netomilfont@hotmail.com. Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, Ceará, Brasil

^[3] mayara_castroa@hotmail.com. Prospecta Assessoria e Serviços Agropecuários, Maceió, Alagoas, Brasil

* Autor correspondente

Resumo

A fruticultura é uma atividade realizada em todas as regiões do Brasil, apresentando grande importância econômica e social para o país, com produção superior a 40 milhões de toneladas por ano, ocupando a terceira posição no ranking mundial. Durante o processo produtivo diversos fatores podem causar prejuízos aos produtores, dentre os quais, a ocorrência de problemas fitossanitários, como a presença de nematoides, destacam-se como uma das principais causas. Os nematoides do gênero *Meloidogyne* são os principais, popularmente conhecidos como nematoide das galhas, ocasionando importante doença em frutíferas no Brasil, incluindo as culturas da goiaba e do mamão, responsáveis por causar danos econômicos. Com isso, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar isolados de *Meloidogyne enterolobii* e *M. konaensis* associados a cultura da goiaba e mamão do Estado do Ceará, utilizando marcadores enzimáticos e moleculares. Os isolados de *M. enterolobii* e *M. konaensis* foram obtidos da Coleção de Fitonematoides do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Ceará (UFC). Para a identificação molecular realizou-se o sequenciamento das regiões D2-D3 do 28S rDNA e a região ITS. Os cladogramas realizados nesse trabalho a partir do sequenciamento obtido, agruparam as populações de *M. enterolobii* e *M. konaensis* com base na análise da máxima verossimilhança com isolados do Brasil e de outros países, atingindo 98-99% de similaridade. Duas espécies de *Meloidogyne* foram identificadas: *M. enterolobii* (MeCE-01) e *M. konaensis* (MkCE-01). A identificação precisa de espécies de *Meloidogyne* é necessária para a adoção de medidas de manejo da doença que preconizam a redução das populações deste nematoide, principalmente, quando há interesse de se utilizar variedades resistentes.

Palavras-chave: esterase; identificação; ITS; nematoide das galhas; 28S.

*Molecular characterization of *Meloidogyne enterolobii* and *M. konaensis* populations in Ceará State, Brazil*

Abstract

The fruit culture is an activity carried out in all regions of Brazil, presenting great economic and social importance for the country, with a production exceeding 40 million tons per year, ranking third worldwide. During the production process, various factors can cause losses to producers, among which phytosanitary problems, such as nematodes, stand out as one of the main causes. Nematodes of the *Meloidogyne* genus are the main ones, popularly known as root-knot nematodes, causing an important disease in fruit crops in Brazil, including guava and papaya cultures, where they are responsible for causing economic damage. Therefore, the present study aimed to characterize isolates of *Meloidogyne enterolobii* and *M. konaensis* associated with guava and papaya crops in the State of Ceará, using enzymatic and molecular markers. The isolates of *M. enterolobii* and *M. konaensis* were obtained from the Phytonematode Collection of the Laboratory of Phytopathology at the Federal University of Ceará. For molecular identification, sequencing of the D2-D3 regions of 28S rDNA and the ITS region was performed. Based on the obtained sequencing, the cladograms generated in this study grouped the populations of *M. enterolobii* and *M. konaensis* through maximum likelihood analysis with isolates from Brazil and other countries, reaching 98-99% similarity. Two species of *Meloidogyne* were identified: *M. enterolobii* (MeCE-01) and *M. konaensis* (MkCE-01). Accurate

identification of Meloidogyne species is necessary for the adoption of disease management measures aimed at reducing the populations of these nematodes, especially when there is interest in using resistant varieties.

Keywords: esterase; identification; ITS; root-knot nematode; 28S.

1 Introdução

A fruticultura brasileira é um setor que nos últimos anos vem crescendo, tanto na produção quanto na quantidade colhida em cada safra (Duarte, 2018), o que torna a participação do país significativa no ranking mundial, estando na terceira posição, atrás apenas da Índia, que ocupa o segundo lugar e da China que é o maior produtor mundial (FAO, 2021). No Brasil mais de 40 milhões de toneladas de frutas são colhidas (Kist; Carvalho; Beling, 2021), sendo os maiores produtores os estados de São Paulo, Bahia, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Pará, com destaque para as culturas da laranja, limão, tangerina, banana, abacaxi, coco-da-baía, melancia e mamão (Gerum *et al.*, 2019).

No estado do Ceará, a fruticultura é uma atividade agrícola de grande importância econômica e social, contribuindo significativamente para a geração de empregos diretos e indiretos, além de possibilitar a diversificação da produção agrônômica. As condições edafoclimáticas da região favorecem o cultivo de uma ampla variedade de frutas tropicais, entre as quais banana, maracujá, coco-da-baía e mamão, que têm grande demanda tanto no mercado interno quanto no externo (IBGE, 2022a; Vidal, 2020). O cultivo de frutas em áreas de produção cearenses tem um impacto expressivo também na geração de renda em comunidades rurais e no desenvolvimento de agroindústrias (Nascimento *et al.*, 2021).

A goiaba (*Psidium guajava* L.) é uma fruta que apresenta destaque na produção do Brasil, o maior produtor mundial de goiaba vermelha (Galeano *et al.*, 2023). No país, as regiões Nordeste e Sudeste são as maiores produtoras, com Pernambuco, Bahia e Ceará sendo os estados nordestinos com maior relevância na produção (IBGE, 2022b). Assim como em outras culturas, os problemas fitossanitários afetam a produção de goiaba, que consequentemente reduzem a produtividade e diminuem a qualidade dos frutos (Sussel, 2010). Dentre esses problemas, destacam-se os nematoides do gênero *Meloidogyne* Goeldi, sendo *M. enterolobii* Yang & Eisenback a principal espécie encontrada associada a goiabeiras, responsável por perdas expressivas nos pomares (Silva; Santos; Silva, 2016).

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) também possui importância no Brasil, pois é uma cultura com boa adaptação em regiões de clima tropical e subtropical (Kist *et al.*, 2018). Os estados brasileiros que se destacam na produção desta fruta são Espírito Santo, Bahia e Ceará (IBGE, 2022b), fomentando assim a cadeia produtiva, que apresenta relevância na geração de emprego e renda nas regiões produtoras (Nunes *et al.*, 2021). No entanto, o mamão é suscetível a fitopatógenos, como nematoide *Meloidogyne*, que possui presença frequente nas lavouras, causando elevados prejuízos, com as espécies *M. javanica* (Treub) Chitwood e *M. enterolobii* as mais comumente relatadas. Porém, em levantamento realizado no estado do Ceará, a espécie *M. konaensis* Eisenback, Bernard & Schmitt também foi identificada nas áreas de produção de mamão (Silva; Santos; Silva, 2016).

Os nematoides parasitas de plantas são patógenos disseminados por praticamente todas as regiões do Brasil, apresentando capacidade de causar enormes prejuízos à agricultura, ocasionando perdas elevadas na produção. No entanto, por vezes, são negligenciados, pois o parasitismo comumente não conduz a sintomas específicos, podendo ser confundido com déficit hídrico ou nutricional, fatores abióticos, tratamentos culturais incorretos ou até mesmo outro patógeno (Ferraz; Brown, 2016). Por esses motivos, gera-se certa incredulidade em relação ao diagnóstico do problema e resistência à adoção de medidas de manejo, o que agrava os prejuízos, principalmente em frutíferas (Dias-Arieira *et al.*, 2010).

O gênero *Meloidogyne*, também conhecido como nematoide das galhas, é o que apresenta maior importância econômica mundial para a agricultura, ocasionando grandes danos às culturas, podendo chegar a 100% da produção, a depender da densidade populacional, condições ambientais e fisiológicas da planta (Alfenas, 1998; Moens; Perry; Starr, 2009). Está amplamente distribuído e possui uma enorme gama de hospedeiros, sendo um endoparasita sedentário e obrigatório altamente adaptado capaz de formar galhas no sistema radicular que causam hiperplasia e hipertrofia, reduzindo

o potencial de absorção de água e nutrientes pela planta (Agrios, 2005; Jones *et al.*, 2013; Karszen, Wesemael; Moens, 2013; Vovlas *et al.*, 2005).

A taxonomia clássica do gênero *Meloidogyne* é realizada em laboratórios por meio de características morfológicas das fêmeas, dos machos e de juvenis de segundo estágio (J2), juntamente com as plantas diferenciadoras, que são empregadas na definição da raça das principais espécies de *Meloidogyne*: *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* (Taylor; Sasser, 1978; Hartman; Sasser, 1985). Entretanto, as características morfológicas são subjetivas, o que exige um nematologista taxonomista experiente, e ainda assim, com possibilidade de equívocos na identificação, uma vez que existem variações intraespecíficas. Com isso, impulsionou-se a busca pelo uso de métodos mais precisos para uma melhor descrição das espécies (Carneiro; Lima; Correia, 2017; Silva *et al.*, 2014).

Para a caracterização molecular do gênero *Meloidogyne* são empregadas técnicas baseadas na utilização do DNA, o que se tornou bastante importante para garantir uma identificação mais rápida e segura (Castagnone-Sereno; Vanlerberghe-Masutti; Leroy, 1994; Silva, 2014; Silva; Santos; Silva, 2016). Além disso, conduz a um diagnóstico mais preciso, possibilitando a adoção de estratégias de manejo que visem diminuir as populações de *Meloidogyne* spp. de maneira mais eficiente.

Os métodos moleculares têm sido utilizados no monitoramento geográfico em diversas regiões com atividade agrícola, o que possibilita a obtenção de informações quantitativas sobre o nível de infecção e a progressão em áreas circunvizinhas. Além disso, essas técnicas possibilitam a detecção de variações dentro da espécie ou o surgimento de novas espécies, um conhecimento essencial para estabelecer estratégias adequadas dentro de um programa de manejo eficiente, visando o controle e a prevenção da introdução de fitopatógenos em áreas previamente não afetadas (Bell *et al.*, 2021).

No Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Ceará (UFC), são mantidas espécies de *Meloidogyne* de ocorrência natural em diferentes culturas cultivadas no estado do Ceará, dentre essas, *M. enterolobii*, que tem se disseminado largamente em diversas regiões e hospedeiros no Brasil, e *M. konaensis*, relatada no país como presente somente no estado do Ceará. Diante da importância dessas duas espécies para a região, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar isolados de *M. enterolobii* e *M. konaensis* originários de áreas de cultivo cearense, buscando investigar o relacionamento filogenético dessas espécies com outros isolados descritos em outros países do mundo, utilizando dados do sequenciamento da região D2-D3 do 28S rDNA e região ITS.

Ao avaliar a ausência de dados filogenéticos do gênero *Meloidogyne* que relacionam populações do estado do Ceará com outras populações existentes no mundo, este trabalho detalha, na seção 2, a metodologia utilizada, apresentando os locais de coleta e as caracterizações morfológicas, morfométricas, bioquímica e molecular das populações de *Meloidogyne* spp. cearenses. Na seção 3, são exibidos os resultados e as discussões; como resultado tem-se a identificação das populações amostradas, *M. enterolobii* e *M. konaensis*, e a relação filogenética de ambas com isolados de *Meloidogyne* spp. de outros países que possuem dados das regiões D2-D3 do 28S rDNA e ITS depositados no GenBank. Na discussão são trazidas pesquisas que endossam a importância da abordagem filogenética de espécies de *Meloidogyne*. Para finalizar, na seção 4 é apresentada a conclusão e os trabalhos futuros que podem ser desenvolvidos a partir das informações fornecidas neste estudo.

2 Método da pesquisa

As populações de *Meloidogyne* spp. utilizadas neste estudo foram provenientes da coleção de fitonematóides do Laboratório de Fitopatologia da UFC, a partir de isolados de *M. enterolobii* e *M. konaensis* obtidos de raízes infectadas de plantas de goiaba e mamão coletadas em pomares dos municípios de Acaraú e Guaiuba, os dois no estado do Ceará (CE), respectivamente (Silva; Santos; Silva, 2016). As espécies de *Meloidogyne* foram identificadas por meio das características morfológicas utilizando padrões perineais (Hartman; Sasser, 1985), morfométricas, bioquímicas através da eletroforese da isoenzima esterase (Carneiro; Almeida; Quénéhervé, 2000; Esbenschade; Triantaphyllou, 1990) e técnica molecular utilizando marcador SCAR (Monteiro *et al.*, 2016; Silva; Santos, 2017). As populações de *Meloidogyne* spp. foram mantidas e multiplicadas utilizando uma única massa de ovos de cada população, visando obter amostras puras dos nematóides inoculadas em plantas de coleus (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br.) (Silva; Santos, 2012) sob condições de casa de vegetação (29 ± 4 °C).

Inicialmente, para a caracterização das populações de *M. enterolobii* e *M. konaensis* utilizou-se quatro fêmeas de cada espécie, sendo extraídas individualmente das raízes de coleus, sob microscópio estereoscópio com auxílio de estilete, após lavagem do sistema radicular em água corrente segundo metodologia de Christoforou, Orford e Tsaltas (2017). Posteriormente, foram transferidas para tubo contendo tampão de extração, colocando duas fêmeas por tubo. Para a extração do DNA genômico utilizou-se o protocolo WLB – *Worm Lysis Buffer* (Waeyenberge *et al.*, 2000), onde as fêmeas foram retiradas das raízes e transferidas para solução salina a 1 M NaCl (29,22 g NaCl + 500 mL água destilada). Depois colocadas individualmente em microtubos de 0,2 mL contendo 20 µL de solução WLB e, posteriormente, com o auxílio de uma pinça, as fêmeas foram pressionadas até que sua cutícula fosse rompida e extravasasse o conteúdo interno para a solução contida no microtubo. O material foi incubado a 60 °C durante 1 hora, com agitação manual a cada 15 minutos, e aquecido a 95 °C por 15 minutos, completando com o resfriamento a 4 °C. Ao final do procedimento foram obtidas quatro amostras de DNA: duas amostras do isolado de MeCE-01 (Msp1 e Msp2) e duas amostras do isolado de MkCE-01 (Msp3 e Msp4). Para estimar a qualidade do DNA extraído, foi utilizado gel de agarose (0,8%) corado com 0,25 µg/ml de brometo de etídio em TBE 1X, ajustado a voltagem de 100 V (1-5 V/cm de comprimento do gel) durante 30 min, fotografada sob luz UV para observar a integridade do DNA, e para a quantidade um espectrofotômetro NanoVue™ (GE Healthcare®) com 3 µL da amostra. Considerou-se a extração como adequada quando a razão 260/280 variou de 1,8 a 2,0.

Para a obtenção de sequências de nucleotídeos dos isolados MeCE-01 e MkCE-01, visando estudo filogenético posterior, procedeu-se à amplificação de dois fragmentos do DNA ribossomal (rDNA): região D2-D3 do 28S rDNA e região ITS, utilizando os pares de *primers* D2A e D3B para amplificar a região D2-D3 do segmento 28S rDNA e os *primers* 18S e Vrain2R para a amplificação da região ITS (Tabela 1). As regiões selecionadas, por serem as mais informativas e possuir diversas sequências depositadas em bancos de nucleotídeos, fator de fundamental importância para estudos de relações filogenéticas.

Tabela 1 – *Primers* utilizados para amplificar da região D2-D3 de 28S rRNA e regiões ITS de populações de *Meloidogyne* spp

<i>Primer</i>	Sequência (5' – 3')	Região	Tamanho	Referência
D2A	ACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTG	28S	700pb	De Ley <i>et al.</i> (1999)
D3B	TCGGAAGGAACCAGCTACTA			
18S	TTGATTACGTCCCTGCCCTTT	ITS	750pb	Vrain <i>et al.</i> (1992)
VRAIN2R	TTTCACTCGCCGTTACTAAGGGAATC			

Fonte: De Ley *et al.* (1999) e Vrain *et al.* (1992)

Na PCR (*Polymerase Chain Reaction*), foi utilizado o kit PCR Master Mix (2X) (Fermentas®), com um volume final de 25 µL, seguindo os protocolos descritos pelo fabricante. Para as amplificações dos isolados de *M. enterolobii* e *M. konaensis*, foi utilizado o termociclador Biocycler MJ 96+ (Biosystems®), de acordo com as descrições dos protocolos de Powers e Harris (1993). As condições da PCR para a amplificação dos segmentos foram diferentes: 28S - desnaturação por 95 °C por 3 minutos, seguido por 35 ciclos de 95 °C por 1 minuto, 68 °C por 1 minuto, 72 °C por 1 minuto e extensão final a 72 °C por 7 minutos; ITS – desnaturação a 94 °C por 1 minuto, hibridização a 48 °C por 1 minuto e extensão a 70 °C por 2 minutos, repetidos por 45 ciclos, e extensão final a 72 °C por 7 minutos. Foram utilizadas duas amostras de DNA de cada espécie de nematoide. Os fragmentos de PCR amplificados foram visualizados em gel de agarose a 2% e as suas impurezas foram removidas usando o kit AxyPrep™ PCR Cleanup (Axygen®). Após conferir a qualidade da amplificação das regiões do ITS e D2-D3 no gel de agarose, os quatro isolados foram encaminhados para o sequenciamento usando a tecnologia de Sanger através do sequenciador automático 3500 DNA Analyzer (Applied Biosystems®) de acordo com as descrições sugeridas pelo fabricante.

Uma análise preliminar foi realizada utilizando a região ITS com o intuito de identificar haplótipos através do software DnaSP v.5 (Librado; Rozas, 2009), para escolher isolados representativos para o sequenciamento da região D2-D3 do 28S. Em seguida, procedeu-se aos alinhamentos das duas regiões sequenciadas, ajustando-as manualmente por meio de inspeção visual para alcançar o máximo de alinhamento e similaridade, excluindo das análises a ocorrência de regiões

que apresentassem sequências ambíguas. Posteriormente, as sequências de nucleotídeos dos isolados (MeCE-01 e MkCE-01) foram depositadas no GenBank¹, e comparadas com outras sequências de *Meloidogyne* depositadas usando o programa BLASTn² para localizar sequências de DNA do banco de dados similares as sequências consenso de MeCE-01 e MkCE-01 por meio de um alinhamento local.

Após o sequenciamento, procedeu-se à análise filogenética utilizando-se o método da Máxima Verossimilhança (MV) (Bryant; Galtier; Poursat, 2005). As sequências dos isolados tipos de *Meloidogyne* foram obtidas através do GenBank (Tabela 2) e utilizadas como referência para realizar os alinhamentos múltiplos das sequências de *M. enterolobii* e *M. konaensis* com o auxílio do programa MAFFT (Katoh; Standley, 2013). O programa MrModeltest (Nylander, 2004) implementado no PAUP (*Phylogenetic Analysis Using Parsimony*; v.4.0 b10) foi usado para determinar os melhores modelos de cada análise. A confiabilidade dos nós das árvores filogenéticas foi checada via *bootstrap* com 1.000 simulações e apenas valores de suporte acima de 70% foram considerados, conforme utilizado em estudo realizado por Powers (2004).

Tabela 2 – Isolados de *Meloidogyne* utilizados nos estudos das sequências da região D2-D3 de 28S rRNA e região ITS

Espécies	Hospedeira	Local	Código do GenBank	
			D2-D3	ITS
<i>M. arenaria</i>	Gramíneas	China	KP901082	MF168954
<i>M. arenaria</i>	Gramíneas	China	KX151138	MF168955
<i>M. chitwoodi</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	EUA	KP901080	U96302
<i>M. chitwoodi</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	Holanda	AF435802	AY281852
<i>M. enterolobii</i>	<i>Zingiber officinale</i>	China	MF467276	KP901058
<i>M. enterolobii</i> *	<i>Psidium guajava</i>	Brasil	PP564852	PP555601
<i>M. ethiopica</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	Brasil	KF482372	MF168951
<i>M. ethiopica</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	África do Sul	-	LN626966
<i>M. fallax</i>	<i>Solanum physalifolium</i>	Nova Zelândia	FN429017	-
<i>M. graminis</i>	Gramíneas	EUA	JN019331	-
<i>M. graminis</i>	Gramíneas	EUA	KP901077	-
<i>M. hapla</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	EUA	MN475814	AF516722
<i>M. hapla</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	Etiópia	KU587712	-
<i>M. haplanaria</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	EUA	-	MK102773
<i>M. haplanaria</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	EUA	-	MK102772
<i>M. hispanica</i>	<i>Morus spp.</i>	Irã	KT359553	-
<i>M. hispanica</i>	<i>Prunus domestica</i>	Espanha	EU443606	-
<i>M. incognita</i>	<i>Daucus carota</i>	Brasil	MF157447	MF168966
<i>M. incognita</i>	<i>Daucus carota</i>	Brasil	MF157442	MF168965
<i>M. javanica</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	Brasil	KY033196	MF168972
<i>M. javanica</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	Brasil	MK410436	MF168973
<i>M. konaensis</i>	<i>Coffea arabica</i>	EUA	AF435797	AF516723
<i>M. konaensis</i> *	<i>Carica papaya</i>	Brasil	PP564853	PP555602
<i>M. lopezi</i>	<i>Coffea arabica</i>	Costa Rica	KF993616	-
<i>M. marylandi</i>	Gramíneas	Israel	JN157852	MK102781
<i>M. marylandi</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	EUA	MK102782	MK102774
<i>M. minor</i>	Gramíneas	Reino Unido	JN157846	AY281855
<i>M. minor</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	Nova Zelândia	KX671113	-
<i>M. paranaensis</i>	<i>Coffea arabica</i>	Brasil	-	KY911110

*Isolados identificados neste estudo

Fonte: GenBank (2024)

3 Resultados e discussões

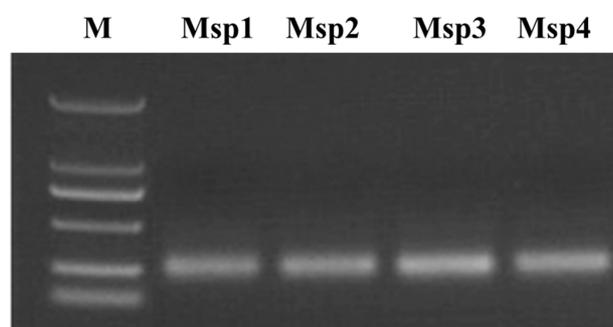
¹ GenBank. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>. Acesso em: 18 mai. 2024.

² BLASTn. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>. Acesso em: 18 mai. 2024.

Inicialmente, observou-se a integridade do DNA dos isolados de MeCE-01 (Msp1 e Msp2) e de MkCE-01 (Msp3 e Msp4) para posterior utilização nas ampliações das regiões ITS e D2-D3. O resultado da eletroforese obtida na extração do DNA de todos os isolados indicou que as amostras estavam aptas para serem utilizadas nas ampliações.

Os isolados foram separados em 2 haplótipos diferentes (H1-H2), sendo dois representados pelo haplótipo (H1), com suas sequências agrupadas em *Meloidogyne* 1 (MeCE-01); e os outros dois isolados representados pelo haplótipo (H2), com identificação de *Meloidogyne* 2 (MkCE-01). Um total de dois isolados representativos dos dois haplótipos foram escolhidos da análise da região ITS para o sequenciamento do *locus* restante e análises subsequentes. Posteriormente, foi verificado o resultado das ampliações dos isolados de MeCE-01 (Msp1 e Msp2) e de MkCE-01 (Msp3 e Msp4), por meio da PCR através da técnica de eletroforese em gel de agarose, das regiões ITS (Figura 1) e D2-D3.

Figura 1 – PCR da região ITS dos isolados de MeCE-01 (Msp1 e Msp2) e MkCE-01 (Msp3 e Msp4). M: Marcador de peso molecular de 1 Kb; Msp1-Mps2: Isolados de *M. enterolobii*; Msp3-Mps4: Isolados de *M. konaensis*

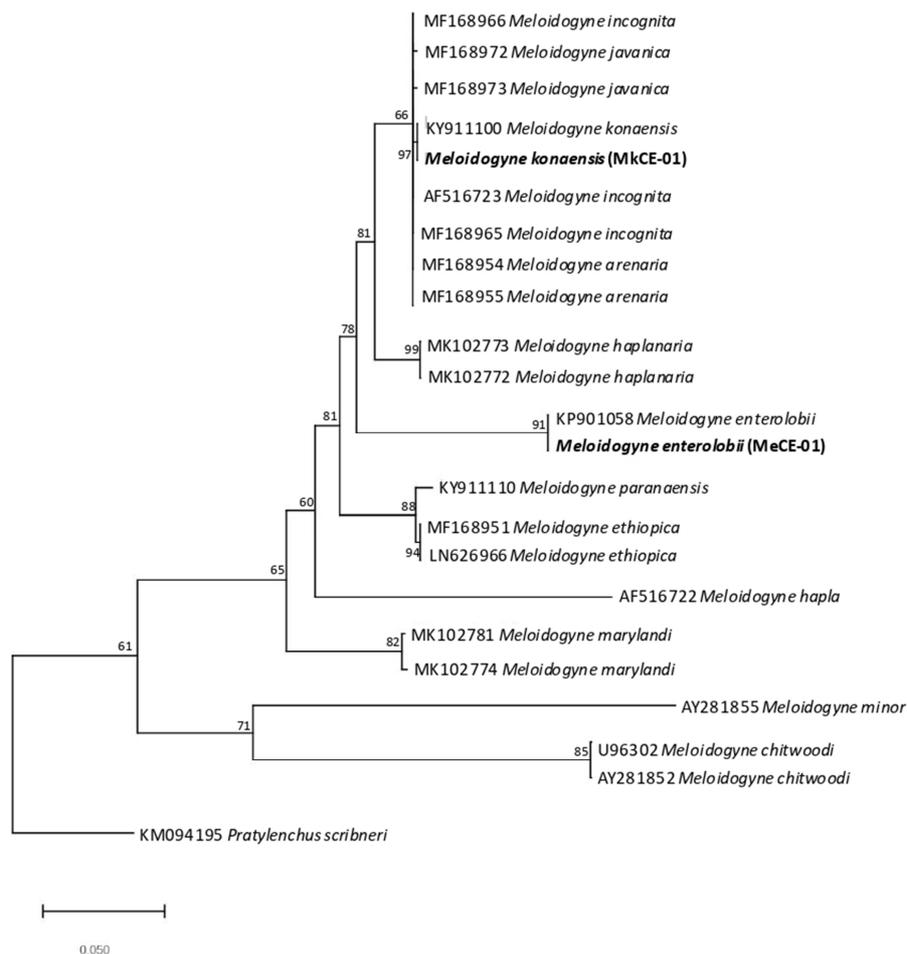


Fonte: dados da pesquisa

Quatro sequências de nucleotídeos foram obtidas: duas da região ITS com 724 bp cada uma; e duas da região D2-D3 do 28S, sendo a de MeCE-01 com 755 bp e MkCE-01 com 750 bp. Após análise das sequências estudadas, percebeu-se que os isolados de MeCE-01 e de MkCE-01 foram distribuídos em um clado bem apoiado com análises multilocais de MV em árvores com *locus* individual apresentando topologia semelhante. Na análise foi registrado que os alinhamentos de múltiplas sequências apresentaram uma ancestralidade comum entre as bases, como relatada por Schneider (2003).

Para a análise individual da região ITS utilizando a MV foi observado que o isolado MeCE-01 formou um clado com isolado de *M. enterolobii* apresentando um *bootstrap* de 91. Enquanto que o isolado MkCE-01 foi observado que além de agrupar em um subclado com um isolado de *M. konaensis* com um *bootstrap* de 97, também esteve agrupado em um clado com isolados das espécies *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. incognita*, porém com valor de *bootstrap* de 66 (Figura 2), o que é comum em análises moleculares de fitonematoides utilizando a região ITS, pois esta região possui baixa informatividade filogenética, no entanto, continua sendo bastante utilizada devido elevada quantidade de depósitos de sequências realizadas no *Genbank*, como foi registrado nos trabalhos de Álvarez-Ortega, Brito e Subbotin (2019) e Ye *et al.* (2021). Os elevados valores dos suportes registrados nos dois subclados dos isolados MeCE-01 e MkCE-01 nas análises filogenéticas utilizando a região ITS foram similares aos valores aceitáveis por Rost (1999).

Figura 2 – Relação filogenética de espécies de *Meloidogyne* baseada no alinhamento sequencial da região ITS. A árvore filogenética foi estimada por Máxima Verossimilhança. *Pratylenchus scribneri* foi utilizado como *outgroup*

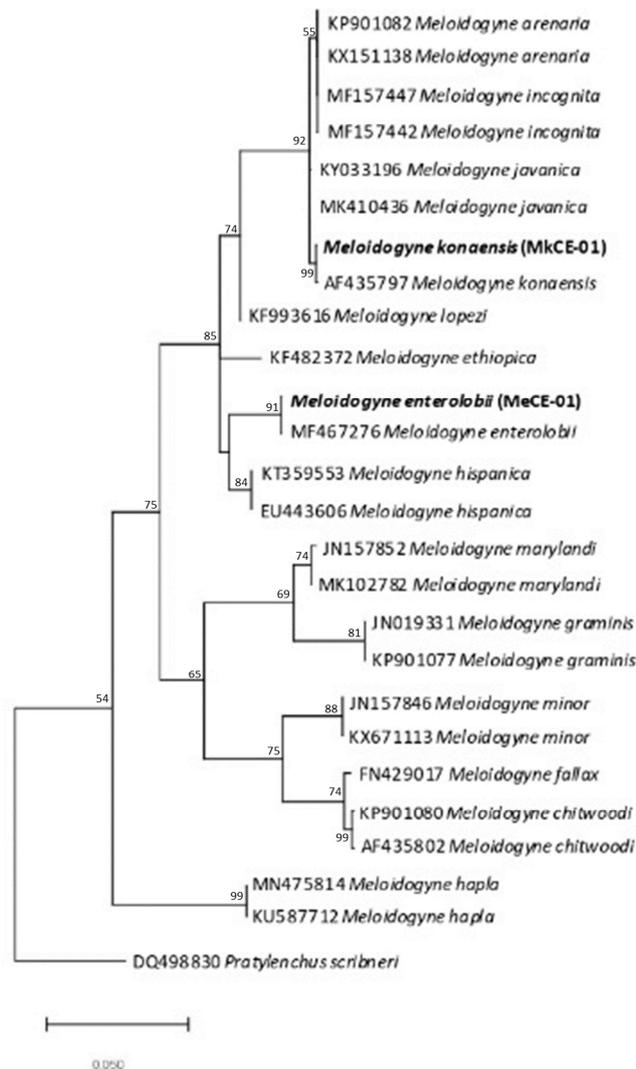


Fonte: dados da pesquisa

Nas pesquisas do BLASTn com as sequências de rDNA de ITS, o isolado de MeCE-01 (PP555601) apresentou 98% de similaridade com isolados de *M. enterolobii* da China (MT406251) e Taiwan (MT919378); e o isolado MkCE-01 (PP555602) exibiu identidade de 99% com o isolado de *M. konaensis* do Brasil (KY911100), sendo o único depósito da região do ITS para esta espécie do nematoide no país (Figura 2).

O resultado da análise individual da região D2-D3 do 28S revelou que, semelhante ao resultado da análise individual da região ITS, o isolado MeCE-01 (PP564852) agrupou em clado com valor de *bootstrap* de 91 com isolado de *M. enterolobii*, o isolado MkCE-01 (PP564853) também se agrupou no mesmo clado com populações de *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. incognita* com um *bootstrap* de 92, além de um subclado com isolado de *M. konaensis* com um *bootstrap* de 99 (Figura 3). Em estudo realizado por Monteiro *et al.* (2016) com a espécie *M. konaensis*, observou-se comportamento similar, entretanto sem a presença da espécie *M. javanica*. Esse clado formado com diferentes espécies de *Meloidogyne* também foi registrado em estudo realizado por Furtado *et al.* (2023), sendo constatada significativa variabilidade intraespecífica. A utilização de diversas cópias do rDNA das regiões ITS e D2-D3 do 28S como base proporciona uma amostra alvo para a amplificação por PCR, permitindo a detecção de variações intraespecíficas em populações de espécies de *Meloidogyne* spp. (Adam; Phillips; Block, 2007; Zijlstra *et al.*, 1995). A região D2-D3 do 28S rDNA conservou domínios e segmentos de expansão, sendo esta região muito útil na elaboração de diagnósticos para identificação de espécies (Roberts *et al.*, 2016).

Figura 3 – Relação filogenética de espécies de *Meloidogyne* baseada no alinhamento sequencial da região D2-D3 do segmento 28S rDNA. A árvore filogenética foi estimada por Máxima Verossimilhança. *Pratylenchus scribneri* foi utilizado como *outgroup*



VIEW

Fonte: dados da pesquisa

Para as seqüências da região D2-D3 do 28S, complementando a análise da MV, observou-se nas pesquisas BLASTn que o isolado MeCE-01 registrou o valor de 99% de similaridade com isolados de *M. enterolobii* da China (MF467277), Brasil (KX767845), Estados Unidos (JF309158) e Índia (KT271569) (Figura 3). Esses dados foram similares ao estudo realizado por Souza Junior *et al.* (2021) com populações de *M. enterolobii* de isolados da região nordeste do Brasil.

O isolado MkCE-01 apresentou identidade de 99% com o isolados de *M. konaensis* do Brasil (KY911099) e dos Estados Unidos (AF435797) (Figura 3). A espécie de *M. konaensis* foi inicialmente identificada em áreas da cultura do café (*Coffea arabica* L.) nos Estados Unidos (Schmitt; Zhang; Meisner, 2001), mas também possui hospedeiras nas famílias da Araceae, Bromeliaceae, Brassicaceae, Cucurbitaceae, Cyperaceae, Convolvulaceae, Fabaceae, Poaceae, Solanaceae, Rubiaceae e Zingiberaceae (Ferris, 2024). No Brasil, *M. konaensis* foi relatada no estado do Ceará em repolho, mamão, noni e canapum (Silva; Santos; Silva, 2016). Apesar da ampla gama de hospedeiros, há poucos estudos à nível molecular com esta espécie de *Meloidogyne*, com registro de apenas nove seqüências depositadas no Genbank (duas do gene COI - citocromo oxidase subunidade I, duas da região D2-D3 do 28S, duas do gene MAP1 - proteínas associadas aos microtúbulos, duas de 18S e outra da região ITS) (NCBI, 2024).

Portanto, os isolados de *Meloidogyne* da goiabeira e do mamoeiro, utilizados no presente estudo, foram identificados em duas espécies: MeCE-01 caracterizada como *M. enterolobii*; enquanto MkCE-01 ficou identificada como *M. konaensis* (Figuras 2 e 3). A avaliação das regiões ITS e D2-D3

dos nematoides *M. enterolobii* e *M. konaensis* isolados do Ceará revelaram grande afinidade com as espécies *M. enterolobii* da China isolada do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) (Xiao *et al.*, 2018) e *M. konaensis* do Hawai (De Ley *et al.*, 2005).

Os dados moleculares de *M. enterolobii* obtidos nesta pesquisa servirão de base para estudo futuros de manejo deste nematoide que tem como hospedeiro uma ampla gama de espécies agrícolas, incluindo vegetais, plantas ornamentais, goiabeiras e ervas daninhas (Brito *et al.*, 2004; EPPO, 2016; Overstreet *et al.*, 2018; Rutter *et al.*, 2019; Schwarz *et al.*, 2020; Ye *et al.*, 2021; Ye *et al.*, 2013). Uma preocupação adicional está relacionada à capacidade do *M. enterolobii* se desenvolver em genótipos de culturas que apresentam genes de resistência aos nematoides das galhas radiculares, tais como Mi-1, Mh, Mir1, N, Tabasco e Rk, no tabaco, tomate, soja, batata, feijão, batata-doce e algodão (Kiewnick *et al.*, 2009).

4 Considerações finais

Este é o primeiro estudo a nível molecular com populações de *Meloidogyne enterolobii* no estado do Ceará, contribuindo para o conhecimento sobre a comunidade de nematoides fitoparasitas, sendo uma informação essencial para o desenvolvimento de programas de manejo integrado que visam a diminuição das populações deste fitonematoide em áreas de produção.

Além disso, fornece uma contribuição para futuros estudos filogeográficos de espécies de *Meloidogyne*, com o depósito das sequências no *Genbank*, permitindo, a partir dos resultados obtidos, novos estudos a serem realizados para investigar a relação entre *M. enterolobii* e a microbiota do solo, explorando como essas interações podem ser manipuladas para controlar as populações dos fitonematoides.

Financiamento

Esta pesquisa não recebeu financiamento externo.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

ADAM, M. A. M.; PHILLIPS, M. S.; BLOK, V. C. Molecular diagnostic key for identification of single juveniles of seven common and economically important species of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.). **Plant Pathology**, v. 56, n. 1, p. 190-197, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01455.x>.

AGRIOS, G. N. Plant diseases caused by nematodes. In: AGRIOS, G. N. (ed.). **Plant pathology**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 2005. p. 826-874.

ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa: UFV, 1998. 574p.

ÁLVAREZ-ORTEGA, S.; BRITO, J. A.; SUBBOTIN, S. A. Multigene phylogeny of root-knot nematodes and molecular characterization of *Meloidogyne nataliei* Golden, Rose & Bird, 1981 (Nematoda: Tylenchida). **Scientific Reports**, v. 9, 11788, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48195-0>.

BELL, C. A.; NAMAGANDA, J.; URWIN, P. E.; ATKINSON, H. J. Next-generation sequencing of the soil nematode community enables the sustainability of banana plantations to be monitored. **Applied Soil Ecology**, v. 166, 103999, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.103999>.

BRITO, J. A.; STANLEY, J.; CETINTAS, R.; POWERS, T.; INSERRA, R.; MCAVOY, G.; MENDES, M. L.; CROW, B.; DICKSON, D. Identification and host preference of *Meloidogyne*

mayaguensis and other root-knot nematodes from Florida, and their susceptibility to *Pasteuria penetrans*. **Journal of Nematology**, v. 36, p. 308-309, 2004.

BRYANT, D.; GALTIER, N.; POURSAT, M. A. Likelihood calculation in molecular phylogenetics. In: GASCUEL, O. (ed.). **Mathematics of evolution & phylogeny**. New York: Oxford University Press, 2005. p. 33-62. DOI: <https://doi.org/10.1093/oso/9780198566106.003.0002>.

CASTAGNONE-SERENO, P.; VANLERBERGHE-MASUTTI, F.; LEROY, F. Genetic polymorphism between and within *Meloidogyne* species detected with RAPD markers. **Genome**, v. 37, n. 6, p. 904-909, 1994. DOI: <https://doi.org/10.1139/g94-129>.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* spp. populations. **Nematology**, v. 2, n. 6, p. 645-654, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1163/156854100509510>.

CARNEIRO, R. M. D. G.; LIMA, F. S. O.; CORREIA, V. R. Methods and tools currently used for the identification of plant parasitic nematodes. **Intech**, 2017. DOI: <https://dx.doi.org/10.5772/intechopen.69403>.

CHRISTOFOROU, M.; ORFORD, M.; TSALTAS, D. Molecular diagnostic tools for nematodes. In: SHAH, M. M.; MAHAMOOD, M. (Eds.). **Nematology: concepts, diagnosis and control**. Rijeka: InTech, 2017. p. 37-50. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.69075>.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; FURLANETTO, C.; SANTANA, S. M.; BARIZÃO, D. A. O.; RIBEIRO, R. C. F.; FORMENTINI, H. M. Fitonematoides associados a frutíferas na região Noroeste do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1064-1071, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452010005000119>.

DUARTE, A. **Para onde caminha a nossa fruticultura?** Faro: Voz do Campo, 2018. p. 16-17. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.1/12295>. Acesso em: 31 jan. 2024.

DE LEY P.; DE LEY, I. T.; MORRIS, K.; ABEBE, E.; MUNDO-OCAMPO, M.; YODER, M.; HERAS, J.; WAUMANN, D.; ROCHA-OLIVARES, A.; JAY BURR, A. H.; BALDWIN, J. G.; THOMAS, W. K. An integrated approach to fast and informative morphological vouchering of nematodes for applications in molecular barcoding. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 360, n. 1462, p. 1945-1958, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1726>.

DE LEY, P.; FELIX, M. A.; FRISSE, L.; NADLER, S.; STERNBERG, P.; THOMAS, W. K. Molecular and morphological characterization of two reproductively isolated species with mirror-image anatomy (Nematoda: Cephalobidae). **Nematology**, v. 1, n. 6, p. 591-612, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1163/156854199508559>.

ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, v. 22, n. 1, p. 10-15, 1990. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2619005>. Acesso em: 02 fev. 2024.

EPPO - European and Mediterranean Plant Protection Organization. PM 7/103 (2) *Meloidogyne enterolobii*. **EPPO Bulletin**, v. 46, n. 2, p. 190-201, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/epp.12293>.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **FAOSTAT**. Crops and livestock products. Roma: FAO, 2021. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em: 31 jan. 2024.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. Os nematoides no contexto da agricultura atual. *In*: FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. (eds.). **Nematologia de plantas**: fundamentos e importância. Manaus: Norma Editora, 2016. p. 1-16.

FERRIS, H. NEMAPLEX: the nematode-plant expert information system. Disponível em: <http://nemaplex.ucdavis.edu/Nemabase2010/NematodePageHostRangeResults.aspx?NgenusNspec=Meloidogyne%20konaensis>. Acesso em: 02 fev. 2024.

FURTADO, L. L.; REGO-MACHADO, C. M.; PEIXOTO, G. H. S.; SANTIAGO, T. R. Polyphasic identification of sugarcane root-knot nematodes from ten municipalities in São Paulo State, Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 48, n. 5, p. 523-533, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40858-023-00590-9>.

GALEANO, E. A. V.; CAETANO, L. C. S.; MOREIRA, S. O.; SIMÃO, L. A. Conjuntura da produção e comercialização de goiaba. *In*: GALEANO, E. A. V.; CAETANO, L. C. S.; MOREIRA, S. O.; SIMÃO, L. A. (orgs.). **Cadeia produtiva da goiaba no Espírito Santo**. Vitória: Incaper, 2023. p. 31-40. DOI: <https://doi.org/10.54682/livro.9788589274449>.

GERUM, A. F. A. A.; SANTOS, G. S.; SANTANA, M. A.; SOUZA, J. S.; CARDOSO, C. E. L. **Fruticultura tropical**: potenciais riscos e seus impactos. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2019. 28 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1109012/fruticultura-tropical-potenciais-riscos-e-seus-impactos>. Acesso em: 01 fev. 2024.

HARTMAN, K. M.; SASSER, J. N. Identification of *Meloidogyne* species by differential host test and perineal pattern morphology. *In*: BARKER, K. R.; CARTER, C. C.; SASSER, J. N. (eds.). An advanced treatise on *Meloidogyne*. Vol. II. Raleigh: N.C. State University, 1985. p. 69-77.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agropecuária no Ceará** – Ranking Agricultura. Rio de Janeiro: IBGE, 2022a. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/ce>. Acesso em: 06 fev. 2024.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **PAM – Produção Agrícola Municipal**. Lavouras permanentes. Rio de Janeiro: IBGE, 2022b. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9117-producao-agricola-municipal-culturas-temporarias-e-permanentes.html?=&t=resultados>. Acesso em: 01 fev. 2024.

JONES, J. T.; HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G. J.; GAUR, H. S.; HELDER, J.; JONES, M. G. K.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.; PALOMARES-RIUS, J. E.; WESEMAEL, W. M. L.; PERRY, R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 14, n. 9, p. 946-961, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1111/mpp.12057>.

KARSSSEN, G.; WESEMAEL, W.; MOENS, M. Root-knot nematodes. *In*: PERRY, R. N.; MOENS, M. (eds.). **Plant nematology**. 2. ed. Ghent: CABI International, 2013. p. 73-108.

KATO, K.; STANDLEY, D. M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, n. 4, p. 772-780, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>.

KIEWNICK, S.; DESSIMOZ, M.; FRANCK, L. Effects of the Mi-1 and the N root-knot nematode-resistance gene on infection and reproduction of *Meloidogyne enterolobii* on tomato and pepper cultivars. **Journal of Nematology**, v. 41, n. 2, p. 134-139, 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3365310>. Acesso em: 29 mar. 2024.

KIST, B. B.; CARVALHO, C.; BELING, R. R. **Anuário Brasileiro de Horti & Fruti 2021**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2021. Disponível em: https://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-content/uploads/2021/04/HORTIFRUTI_2021.pdf. Acesso em: 31 jan. 2024.

KIST, B. B.; CARVALHO, C.; TREICHEL, M.; SANTOS, C. E. **Anuário Brasileiro da Fruticultura 2018**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2018. Disponível em: https://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-content/uploads/2018/04/FRUTICULTURA_2018_dupla.pdf. Acesso em: 31 jan. 2024.

LIBRADO, P.; ROZAS, J. DnaSP v.5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, v. 25, n. 11, p. 1451-1452, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>.

MOENS, M.; PERRY, R. N.; STARR, J. L. *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important plant parasites. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (eds.). **Root-knot nematodes**. Wallingford: CABI International, 2009. p. 1-17.

MONTEIRO, J. M. S.; CARES, J. E.; GOMES, A. C. M. M.; CORREA, V. R.; MATTOS, V. S.; SANTOS, M. F. A.; ALMEIDA, M. R. A.; SANTOS, C. D. G.; CASTAGNONE-SERENO, P.; CARNEIRO, R. M. D. G. First report of, and additional information on, *Meloidogyne konaensis* (Nematoda: Meloidogyninae) parasitising various crops in Brazil. **Nematology**, v. 18, n. 7, p. 831-844, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1163/15685411-00002997>.

NASCIMENTO, J. M.; ALENCAR, N. S.; ALVES, D. F.; LIMA JÚNIOR, F. O. Estudo dos efeitos da seca sobre a produção e a exportação das principais frutas cearenses (2012 a 2015). **Práticas Educativas, Memórias e Oralidades – Revista do Pemo**, v. 3, n. 3, e337168, 2021. DOI: <https://doi.org/10.47149/pemo.v3i3.7168>.

NCBI – National Center for Biotechnology Information. *Meloidogyne konaensis*. *Meloidogyne konaensis* is a species of nematode in the family Meloidogynidae. Bethesda: NCBI, 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/data-hub/taxonomy/189292/>. Acesso em: 02 fev. 2024.

NUNES, E. D. S.; KHAN, A. S.; SOUSA, E. P. D.; TABOSA, F. J. S. Determinantes das exportações brasileiras de mamão à luz do modelo gravitacional. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 59, n. 4, e222983, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1806-9479.2021.222983>.

NYLANDER, J. A. A. **MrModeltest v2**. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre: Uppsala University, 2004. Disponível em: <https://github.com/nylander/MrModeltest2>. Acesso em: 18 maio 2024.

OVERSTREET, C.; MCGAWLEY, E. C.; CLARK, C.; REZENDE, J.; SMITH, T.; SISTRUNK, M. **Guava root knot nematode**: a potentially serious new pest in Louisiana. LSU Ag Center publication. 2018. Disponível em: <https://msfb.org/wp-content/uploads/2018/11/guava-root-knot-nematode-adapdf.pdf>. Acesso em: 29 mar. 2024.

POWERS, T. Nematode molecular diagnostics: from bands to barcodes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 42, p. 367-383, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040803.140348>.

POWERS, T. O.; HARRIS, T. S. A polymerase chain reaction method for identification of five mayor *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, v. 25, n. 1, p. 1-6, 1993. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2619349>. Acesso em: 31 jan. 2024.

ROBERTS, D.; OLIVEIRA, C. M. G.; NEILSON, R.; BLOK, V. Diagnose molecular de nematoides parasitos de plantas. In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S. (org.). **Diagnose de fitonematoides**. Campinas: Millennium Editora, 2016. p. 281-324.

ROST, B. Twilight zone of protein sequence alignments. **PEDS. Protein Engineering, Design and Selection**, v. 12, n. 2, p. 85-94, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1093/protein/12.2.85>.

RUTTER, W. B.; SKANTAR, A. M.; HANDOO, Z. A.; MUELLER, J. D.; AULTMAN, S. P.; AGUDELO, P. *Meloidogyne enterolobii* found infecting root-knot nematode resistant sweetpotato in South Carolina, United States. **Plant Disease**, v. 103, n. 4, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-18-1388-PDN>.

SCHMITT, D. P.; ZHANG, F.; MEISNER, M. Potential for managing *Meloidogyne konaensis* on coffee in Hawaii with resistance and a nematicide. **Nematropica**, v. 31, n. 1, p. 67-74, 2001. Disponível em: <https://journals.flvc.org/nematropica/article/view/69614>. Acesso em: 02 fev. 2024.

SCHNEIDER, H. **Métodos de análise filogenética**: um guia prático. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2003, 162p.

SCHWARZ, T.; LI, C.; YE, W.; DAVIS, E. Distribution of *Meloidogyne enterolobii* in eastern North Carolina and comparison of four isolates. **Plant Health Progress**, v. 21, n. 2, p. 91-96, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHP-12-19-0093-RS>.

SILVA, J. C. P.; TERRA, W. C.; FREIRE, E. S.; CAMPOS, V. P.; CASTRO, J. M. C. Aspectos gerais e manejo de *Meloidogyne enterolobii*. In: FREITAS, A. S.; DORNELAS, G. A.; SILVA, J. C. P.; SALUM, L. A.; PIMENTA, L.; PEDROSO, L. A.; FARIA, M. D. R.; PAULA, P. V. A. A.; MARTINS, S. A. (eds.). **Sanidade de raízes**. 1. ed. São Carlos: Suprema. 2014. p. 59-74.

SILVA, M. C. L. **Identificação e caracterização de espécies de *Meloidogyne* em áreas agrícolas e dispersão de *M. enterolobii* em pomares de goiabeira no estado do Ceará**. 2014. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/12781>. Acesso em: 31 jan. 2024.

SILVA, M. C. L.; SANTOS, C. D. G. Distribution of *Meloidogyne enterolobii* in guava orchards in the state of Ceará, Brazil. **Revista Caatinga** v. 30, n. 2, p. 335-342, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n208rc>.

SILVA, M. C. L.; SANTOS, C. D. G. *Solenestemon scutellarioides*, espécie vegetal de rápida propagação para a multiplicação de nematóides das galhas. **Tropical Plant Pathology**. v. 37, 2012 (Suplemento).

SILVA, M. C. L.; SANTOS, C. D. G.; SILVA, G. S. Espécies de *Meloidogyne* associadas a vegetais em microrregiões do estado do Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 4, p. 710-719, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20160085>.

SOUZA JUNIOR, F. J. C.; PEDROSA, E. M. R.; ASSUNCAO, M. C.; SILVA, L. R. B. O.; SANTOS NETO, J. C.; MELLO, A. A. R.; GUIMARAES, L. M. P. Estrutura e diferenciação genética de populações de *Meloidogyne enterolobii* isolados de inhame, baseado no gene mitocondrial COI. In: SIMPÓSIO DE PÓS-GRADUAÇÃO (SIMPOS 2021) DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO, 2021, Recife. **Anais [...]** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2021. Disponível em: <https://doity.com.br/anais/simpos-2021/trabalho/183485>. Acesso em: 02 fev. 2024.

SUSSEL, A. A. B. **Manejo de doenças fúngicas em goiaba e maracujá**. Planaltina: Embrapa Serrados, 2010. 42p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/953744/manejo-de-doencas-fungicas-em-goiaba-e-maracuja>. Acesso em: 31 jan. 2024.

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

VIDAL, M. F. **Fruticultura na área de atuação do BNB: produção, mercado e perspectivas**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2020. 9p. Disponível em: <https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/handle/123456789/390>. Acesso em: 18 maio 2024.

VOVLAS, N.; MIFSUD, D.; LANDA, B. B.; CASTILLO, P. Pathogenicity of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on potato. **Plant Pathology**, v. 54, n. 5, p. 657-664, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01244.x>.

VRAIN, T. C.; WAKARCHUK, D. A.; LEVESQUE, A. C.; HAMILTON, R. I. Intraspecific rDNA restriction fragment length polymorphism in the *Xiphinema americanum* group. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 5, n. 6, p. 563-573, 1992.

WAEYENBERGE, L.; RYSS, A.; MOENS, M.; PINOCHET, J.; VRAIN, T. C. Molecular characterization of 18 *Pratylenchus* species using rDNA restriction fragment length polymorphism. **Nematology**, n. 2, p. 135-142, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1163/156854100509024>.

XIAO, S.; HOU, X. Y.; CHENG, M.; DENG, M. X.; CHENG, X.; LIU, G. K. First report of *Meloidogyne enterolobii* on ginger (*Zingiber officinale*) in China. **Plant Disease**, v. 102, n. 3, p. 684-684, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-17-1477-PDN>.

YE, W.; KOENNING, S. R.; ZENG, Y.; ZHUO, K.; LIAO, J. Molecular characterization of an emerging root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* in North Carolina, USA. **Plant Disease**, v. 105, n. 4, p. 819-831, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-20-0816-RE>.

YE, W.; KOENNING, S. R.; ZHUO, K.; LIAO, J. L. First report of *Meloidogyne enterolobii* on cotton and soybean in North Carolina, USA. **Plant Disease**, v. 97, 1262, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-13-0228-PDN>.

ZIJLSTRA, C.; LEVER, A. E. M.; UENK, B. J.; VAN SILFHOUT, C. H. Differences between ITS regions of isolates of root-knot nematodes *Meloidogyne hapla* and *M. chitwoodi*. **Phytopathology**, v. 85, n. 10, p. 1231-1237, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1094/Phyto-85-1231>.