

Caracterização bioquímica do nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.) em lavouras de arroz irrigado na região central do Rio Grande do Sul

Ricardo Bemfica Steffen¹, Zaida Inês Antonioli^{2*},
Gerusa Pauli Kist³, Manoeli Lupatini⁴, César Bauer Gomes⁵

^{1,2,3,4} Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo,
Centro de Ciências Rurais, UFSM, Santa Maria, RS

⁵EMBRAPA Clima Temperado, Pelotas, RS.

* Autor para correspondência: Departamento de Solos. Av. Roraima 1000,
CEP: 97105-900, Santa Maria/RS
e-mail: zaida@ccr.ufsm.br

Resumo

Vinte e uma populações do nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.) provenientes de oito municípios da região Central do Estado do Rio Grande do Sul, foram caracterizadas bioquimicamente através da isoenzima esterase. Na ocasião das coletas, as plantas amostradas apresentavam-se cloróticas, pouco desenvolvidas e com o sistema radicular deformado, sintomas característicos do ataque do nematóide das galhas. Utilizando-se a isoenzima esterase, identificou-se, em todos locais amostrados, apenas o fenótipo esterase VS1 (Rm 0,70), típico de *M. graminicola*.
Palavras-chave: fenótipo, esterase, *Meloidogyne graminicola*

Summary

Twenty one populations of the root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) from eight site located in districts of the Central area of Rio Grande do Sul State, were biochemical characterized through the esterase isoenzyme. Sampling was performed in areas with chlorotic plants, exhibiting deformed radicular systems typical symptoms of root-knot nematode attack. Esterase isoenzyme, identified in all the sites sampled the phenotype esterase VS1 (Rm 0,70), typical of *M. graminicola*.
Key words: phenotype, esterase, *Meloidogyne graminicola*.

Introdução

No Brasil, cerca de 1,3 milhão de hectares são cultivados anualmente com arroz irrigado (*Oryza sativa* L.), dos quais 950 mil estão localizados no Estado do Rio Grande do Sul. A região central do Estado se caracteriza pelo grande número de municípios, nos quais uma grande percentagem do PIB corresponde à produção primária, principalmente com essa cultura, sendo responsável por 45% da produção nacional, com 11,5 milhões de toneladas (INSTITUTO RIO-GRANDENSE DO ARROZ, 2006).

Os nematóides formadores de galhas radiculares, pertencentes ao gênero *Meloidogyne* spp., constituem o grupo de nematóides com maior importância econômica na agricultura. A ampla distribuição destes parasitos, o grande número de hospedeiros e a interação com outros organismos patogênicos, favorecem para que os fitonematóides sejam um dos organismos responsáveis pela limitação da produtividade agrícola mundial (SASSER & CARTER, 1985). Na cultura do arroz irrigado, os nematóides do gênero *Meloidogyne* spp. prejudicam as plantas devido à sua ação nociva sobre o sistema radicular, alterando a absorção e a translocação de nutrientes, predispondo a planta a estresses ambientais (WHITEHEAD, 1997).

Os prejuízos causados por estes nematóides variam com o grau de resistência das plantas, com a densidade populacional no solo e com o manejo de irrigação da área cultivada (GOMES et al., 1997). Em países Asiáticos produtores de arroz irrigado, os prejuízos causados pela ação do nematóide *M. graminicola* podem atingir 20 a 90% (BRIDGE & PAGE, 1982; RAO et al., 1984; ARAYARUNG-SARIT, 1988; PROT & MATIAS, 1995). No Brasil, os registros de ocorrência de *Meloidogyne* spp. em arroz irrigado são esporádicos, sendo encontrados na literatura, somente dados referentes a cultivares de arroz de sequeiro, onde nem sempre são relatadas as espécies. Embora Ribeiro et al. (1984) tenham relatado a ocorrência de *Meloidogyne* spp. em arroz irrigado no Rio Grande do Sul, a ocorrência do nematóide *M. graminicola* foi relatada pela primeira vez nesse Estado somente em 1991 (SPERANDIO & MONTEIRO, 1991).

Dentre as práticas de controle empregadas no manejo do nematóide das galhas, o uso de genótipos resistentes e a implementação de rotação de culturas em áreas infestadas são as mais eficientes e economicamente viáveis para as condições brasileiras. Entretanto, não existem informações do nível de resistência dos cultivares de arroz irrigado utilizados no sul do Brasil a este nematóide, nem registros de levantamentos visando conhecer as espécies que ocorrem nessa região e no Brasil.

Desta forma, o trabalho teve como objetivo caracterizar bioquimicamente 21 populações do nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.), associadas a cultivares de arroz irrigado provenientes de dez localidades da região central do Estado do Rio Grande do Sul.

Material e métodos

Vinte e uma lavouras de arroz irrigado localizadas em oito municípios e dois distritos (Santa Maria, Água Boa, Arroio do Só, São Vicente do Sul, São Pedro do Sul, Restinga Seca, Formigueiro, Mata, Silveira Martins e São Sepé) da região central do Estado do Rio Grande do Sul foram selecionadas para levantamento da ocorrência do nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.). A caracterização da localidade e informações complementares são apresentadas na Tabela 1.

Em cada local amostrado, plantas de arroz irrigado (em fase de enchimento de grãos) com sintomas de amarelecimento, porte reduzido e contendo galhas foram coletadas para identificação da espécie de *Meloidogyne* utilizando-se metodologia descrita por Carneiro & Almeida (2001).

Inicialmente, fêmeas adultas de coloração branca leitosa foram extraídas das raízes em microscópio estereoscópico com auxílio de agulhas histológicas. Logo após, procedeu-se a caracterização bioquímica das diferentes populações de *Meloidogyne* spp., utilizando-se a isoenzima esterase (CARNEIRO & ALMEIDA, 2001). Para tanto, 20 fêmeas do nematóide por amostra foram transferidas para tubos microhematócritos contendo 2 - 3 μ L de tampão de extração (20 g de sacarose, 1 g de Triton X 100 e 100 mL de água destilada). Logo após, as amostras foram maceradas, sendo as respectivas suspensões absorvidas em papéis de filtro qualitativo (Whatman) 3 mm. Posteriormente, cada pedaço de papel foi aplicado, separadamente, em gel de poliacrilamida 6% (11 X 18 cm, 1 mm de espessura) previamente preparado, sendo que em dois deles foi aplicado uma gota de azul de bromofenol a 0,01%. Em cada gel, duas amostras do macerado de *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 foram incluídas como padrão de comparação dos fenótipos obtidos. Posteriormente, o gel foi acomodado em uma cuba, ligada a uma fonte de 80 volts e mantida em balcão frigorífico a 4 - 8°C, sendo a corrida eletroforética conduzida no sistema horizontal (CARNEIRO & ALMEIDA, 2001).

Após a migração de 5 cm do azul de bromofenol (2 horas de migração), a fonte foi desligada. A seguir, o gel foi transferido a um recipiente de vidro contendo solução de revelação para enzima esterase (50 mL de solução tampão fosfato, 50 mg de Fast Blue RR Salt e 1,5 mL de α -naftilacetato 1%), onde permaneceu incubado no escuro a 37°C por 30 minutos, até que as bandas escuras fossem visualizadas no gel. Após a revelação, o gel foi transferido para uma solução fixadora (10% de ácido acético e 40% de solução de álcool metílico) por 30 minutos. Logo após, o gel foi disposto entre papéis celofane molhados e colocados sobre placas de vidro para secar. A identificação dos fenótipos esterásticos de *Meloidogyne* spp. estudados foi realizada pelo cálculo da mobilidade relativa (R_m) das ban-

das polimórficas de cada população em relação à primeira banda de *M. javanica* (ESBENSHADE & TRIANTAPHYLLOU, 1990; CARNEIRO & ALMEIDA, 2001). Os fenótipos foram identificados por uma letra e um número que correspondem, respectivamente, a inicial do nome da cultura juntamente com o número de bandas (ESBENSHADE & TRIANTAPHYLLOU, 1985; 1990).

A fim de se obter confirmação das espécies encontradas pela caracterização bioquímica, fêmeas de quatro populações também foram caracterizadas pela configuração da região perineal. Os cortes perineais foram efetuados de fêmeas jovens, lavadas e limpas em ácido láctico 45% e montadas em lâminas com glicerina, para posterior observação microscópica e, conseqüente identificação específica (HARTMANN & SASSER, 1985).

Resultados e discussão

Em todas amostras estudadas, identificou-se apenas a presença de *M. graminicola* fenótipo esterase VS1 (Rm 0,70) associado ao sistema radicular das plantas de arroz irrigado (Tabela 1, Figura 1). Estes resultados confirmam a ocorrência desta espécie na região estudada conforme relatos de GOMES et al. (1997). Embora haja registros esporádicos da ocorrência de *M. graminicola* em arroz irrigado (SPERANDIO & MONTEIRO, 1991; SPERANDIO & AMARAL, 1994) no Rio Grande do Sul, este é o primeiro levantamento realizado no Brasil.

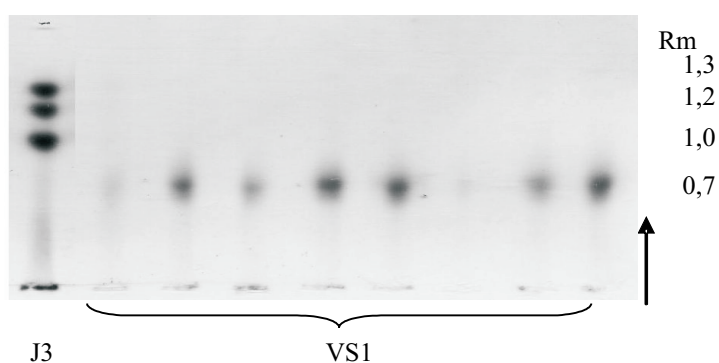


Figura 1: Fenótipos de esterase detectados em 21 populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de plantas de arroz irrigado de lavouras da região central do Estado do Rio Grande do Sul. *M. graminicola* (VS1), *Meloidogyne javanica* utilizado como padrão (J3).

Tabela 1: Caracterização da localidade, área, espécie e fenótipo de esterase encontrados em plantas de arroz irrigado da região central do Estado do Rio Grande do Sul.

Localidade	Área*	Cultivar	Espécie	Fenótipo Esterase
Santa Maria	A	IRGA-417	<i>Meloidogyne graminicola</i>	VS1****
	B	IRGA-417	<i>M. graminicola</i>	VS1
	C	IRGA-422	<i>M. graminicola</i>	VS1
São Vicente do Sul	A	TUNO CL	<i>M. graminicola</i>	VS1
	B	**	<i>M. graminicola</i>	VS1
	C	IRGA-420	<i>M. graminicola</i>	VS1
	D	IRGA-419	<i>M. graminicola</i>	VS1
Mata	A	IRGA-417	<i>M. graminicola</i>	VS1
Formigueiro	A	TUNO CL	<i>M. graminicola</i>	VS1
Água Boa	A	IRGA-422	<i>M. graminicola</i>	VS1
	B	**	<i>M. graminicola</i>	VS1
São Pedro do sul	A	IRGA-410	<i>M. graminicola</i>	VS1
	B	**	<i>M. graminicola</i>	VS1
	C	**	<i>M. graminicola</i>	VS1
Silveira Martins	A	IRGA-420	<i>M. graminicola</i>	VS1
Arroio do Só	A	IRGA-410	<i>M. graminicola</i>	VS1
	B	IRGA-417	<i>M. graminicola</i>	VS1
	C	**	<i>M. graminicola</i>	VS1
Restinga Seca	A	TUNO CL	<i>M. graminicola</i>	VS1
	B	IRGA-417	<i>M. graminicola</i>	VS1
São Sepé	A	***	<i>M. graminicola</i>	VS1

*Diferentes áreas amostradas em cada município

**Cultivar não informada

*** Mistura de cultivares

****Fenótipo de esterase específico para *Meloidogyne graminicola*

Por ocasião da coleta ficou evidente a associação dos sintomas observados nas plantas a campo com o ataque do nematóide (Figura 2). Os sintomas observados foram: plantas cloróticas, raquíticas e com sistema radicular contendo muitas galhas em formato de meia lua em reboleiras de aproximadamente 2 m² (Figura 2 e 3).

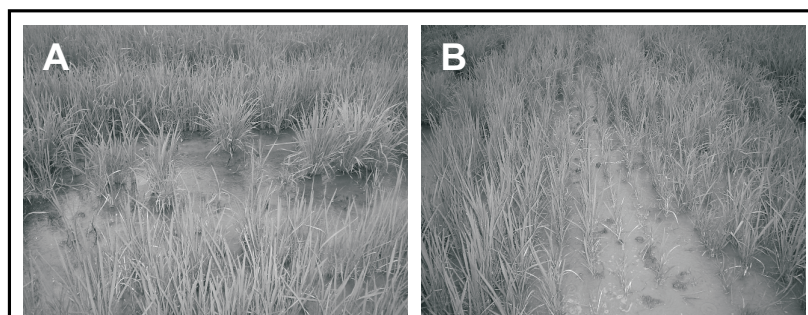


Figura 2: Aspectos das reboleiras, sintoma do ataque de *M. graminicola*, nos municípios de (A) Santa Maria e (B) São Vicente do Sul.

As áreas infestadas, conforme relatos dos proprietários, apresentavam histórico de produtividade decrescente, chegando a ocorrer o abandono das áreas por alguns produtores.

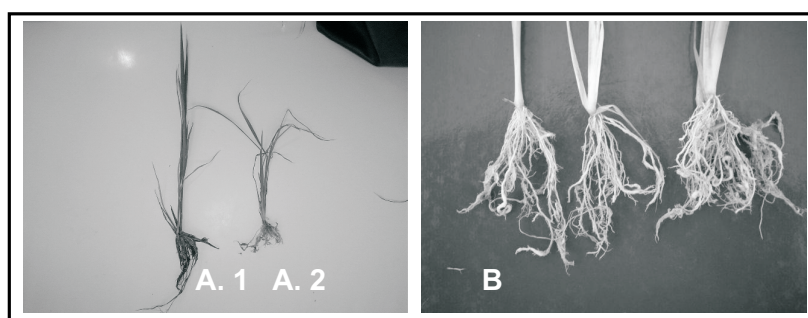


Figura 3: (A) Plantas de arroz irrigado de uma lavoura do município de São Vicente do Sul (A. 1) não atacada pelo nematóide *M. graminicola* e (A. 2) atacadas pelo nematóide. (B) Sintoma do ataque do nematóide no sistema radicular.

As populações estudadas apresentaram padrão perineal (Figura 4) semelhante ao descrito na literatura para o nematóide *Meloidogyne graminicola* (GOLDEN & BIRCHFIELD, 1968).



Figura 4: Padrão perineal de uma das populações de *Meloidogyne* provenientes de lavouras de arroz irrigado da região Central do Rio Grande do Sul, evidenciando o fenótipo esterase VS1, típico de *Meloidogyne graminicola*.

Na sua grande maioria, as lavouras onde foram comprovadas a presença do nematóide *M. graminicola*, pertenciam a pequenos agricultores, os quais constataram que o dano às plantas passava a ser visível em aproximadamente 20 dias após a emergência com um crescente número de plantas apresentando desenvolvimento lento, escurecimento das pontas das folhas, floração precoce e, em áreas mais infestadas, chegando a ocorrer a morte das plantas. A literatura demonstra, o que vem a confirmar o ocorrido em algumas áreas estudadas, que ataques severos do nematóide podem causar morte das plantas parasitadas (SPERANDIO & AMARAL, 1994; WHITEHEAD, 1997). Estudos realizados em países asiáticos, demonstraram que áreas infestadas pelo nematóide apresentam atraso no crescimento da planta e menor desenvolvimento de grãos (PADGHAM et al., 2004). Estes sintomas são identificados como indiretos ou reflexos na parte aérea das plantas, decorrentes principalmente de maiores dificuldades na absorção e na translocação de água e nutrientes disponíveis no solo, tal como o nitrogênio, que é o nutriente necessário às plantas em maior quantidade, cuja limitação diminui a taxa de divisão celular, a expansão celular, a fotossíntese, entre outros efeitos (SINCLAIR & HORIE, 1989).

Em muitos dos casos estudados, os produtores não possuíam implementos próprios, utilizando-os na forma de cooperativa ou pelo empréstimo dos mesmos. Solo infestado aderido aos implementos pode ter contribuído para a disseminação do nematóide para novas áreas, além dis-

so, o curso d'água utilizado para o manejo da irrigação da lavoura era o mesmo para as diferentes áreas que apresentaram o nematóide. Os nematóides podem ser comumente disseminados pela suspensão nas águas de irrigação, assim como pelo transporte através de sua aderência em maquinários e implementos agrícolas, bem como aos cascos de animais que venham a circular pela área infestada (LORDELLO, 1992).

O uso comunitário de maquinário aliado a práticas de irrigação baseadas no mesmo curso d'água podem explicar a homogeneidade da população, que poderia ser originada de uma população inicial comum.

As populações de *Meloidogyne* estudadas a nível específico, apresentaram o mesmo perfil para esterase, demonstrando apenas a presença de *M. graminicola* nessa região. Entretanto, como outras espécies do nematóide das galhas poderão estar presentes em lavouras de arroz irrigado, um levantamento mais detalhado deve ser realizado em outras regiões orizícolas do Estado do Rio Grande do Sul.

Referências bibliográficas

- ARAYARUNG-SARIT, L. Yield ability of rice varieties in field infested with root-knot nematode. **Rice Abstracts**, Philippines.12: n.5, p.14,1987.
- BRIDGE, J.; PAGE, S. L. J. The rice root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola*, on deep water rice (*Oryza sativa* subsp. *indica*). **Revue Nematologie**. Paris. 5: 225-232, 1982.
- CARNEIRO, R. M. D.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides de galhas para identificação de espécie. **Nematologia Brasileira**, Brasília, 25: 35-44. 2001.
- ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species (Nematoda: Tylenchida). **Journal of Nematology**, Raleigh , 17: 6-20. 1985.
- ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Isoenzyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, Raleigh, 22: 10-15. 1990.
- GOLDEN, A. M.; BIRCHFIELD, W. Rice root-knot nematode (*Meloidogyne graminicola*) as a new pest of rice. **Plant Disease Reporter**, University of Idaho, 52: 423. 1968.
- GOMES, C. B.; MARCHEZAN, E.; FONTANA, I.; CARNEIRO, R. M. G.; ALMEIDA, M. R. A. Ocorrência de *Meloidogyne graminicola* em Santa Maria, RS. **Ciência Rural**, Santa Maria, 27: 501-502. 1997.
- 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.; CARTER, C. C.; SASSER, J. N. An advanced treatise on *Meloidogyne*. North Carolina State University Graphics, Raleigh, 2: 69-77. 1985.
- LORDELLO, L. G. E. **Nematóides das plantas cultivadas**. 8.ed. São Paulo, Livraria Nobel. 314p. 1992.
- PADGHAM, J. L.; DUXBURY, J. M.; MAZID, A. M.; ABAWI, G. S.; HOSSAIN, M. Yield loss caused by *Meloidogyne graminicola* on lowland rainfed rice in Bangladesh. **Journal of Nematology**, Raleigh, 36: 42-48. 2004.
- INSTITUTO RIO-GRANDENSE DO ARROZ. IRGA. 2006. Disponível em: <[http:// www.irga.rs.gov.br](http://www.irga.rs.gov.br) > acesso em: 12 fev. 2007.
- PROT, J. C.; MATIAS, D. M. Effects of water regime on the distribution of *Meloidogyne graminicola* and other root-parasitic nematodes in a rice field toposequence and pathogenicity of *M.*

graminicola on rice cultivar UPL R15. **Nematologica**, Leiden. 41: 219-228. 1995.

RAO, Y. S.; PRASAD, S.; RAO, A. V. S. Interaction of the cyst and root-knot nematodes in roots rice. **Revue de Nematologie**, Paris. 7: 117-120. 1984.

RIBEIRO, A. S.; SPERANDIO, G. A. De.; SELISTRE, J. F. De. Novo nematóide ataca o arroz no RS. **Revista Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre, 37: 6-7, mar./abr. 1984.

SASSER, J. N.; CARTER, C. C. (eds). An Advanced treatise on *Meloidogyne*: Biology and control. North Carolina State, **Raleigh**: University Graphics, 1: 19-24. 1985.

SINCLAIR, J. R.; HORIE, T. Leaf nitrogen, photosynthesis, and crop radiation use efficiency: a review. **Crop Science**, Madison, 29: 90-98. 1989.

SPERANDIO, C. A.; AMARAL, A. S. Ocorrência de *Meloidogyne graminicola* causador da falsa bicheira do arroz irrigado no Rio Grande do Sul. **Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre, 47: 3-5, nov./dez. 1994.

SPERANDIO, C. A.; MONTEIRO, A. R. Ocorrência de *Meloidogyne graminicola* em arroz irrigado no Rio Grande do Sul. **Nematologia Brasileira**, Brasília, 15: 203-204. 1991.

WHITEHEAD, A. G. **Plant nematode control**. CAB International. Wallingord. 384p. 1997.