

Nº79 – DIVERSIDADE GENÉTICA DE RAÇAS DE *Meloidogyne enterolobii* CAUSANDO DANOS A DIFERENTES CULTURAS NO BRASIL.

Souza C.F.B.^{1,2}; Cruz A.L.P.^{1,2}; Santos M.F.A.^{1,2}; Perina F.J.³; Cares J.E.¹; Castagnone-Sereno P.⁴; Carneiro R.M.D.G.².

¹UNB, Brasília, DF; ²EMBRAPA CENARGEN, Brasília, DF; ³EMBRAPA CNPA, Campina-Grande, PB; ⁴Institut Sophia Agrobiotech INRAE, França.



INTRODUÇÃO

Meloidogyne enterolobii (sin. *M. mayaguensis*), conhecido como nematoide das galhas da goiabeira, é considerado um risco para a agricultura devido à sua ampla distribuição em plantas de goiaba e amplo espectro de hospedeiros. Além disso, apresenta virulência a vários genes presentes em plantas cultivadas resistentes a outras espécies do nematoide das galhas.

Meloidogyne enterolobii foi descrito na China em 1983, e posteriormente foi sinonimizado com *M. mayaguensis* descrito em Porto Rico em 1988. Ambas as espécies mostraram resposta positiva em relação às plantas hospedeiras diferenciadoras, entre elas, o tabaco, pimentão, melancia e tomate, mas, *M. enterolobii* infectou plantas de algodão, enquanto *M. mayaguensis* não. No Brasil, a população da goiabeira não parasita o algodoeiro e recentemente foram detectadas duas populações infectando essa cultura (Souza et al., 2022). Essa diferença de hospedeiros caracteriza a existência de raças. O objetivo desta pesquisa foi estudar a variabilidade de sete populações de *M. enterolobii* provenientes de diferentes plantas hospedeiras incluindo as duas raças, utilizando marcadores RAPD e AFLP. Também foram analisadas as sequências das regiões mitocondrial (*COII*), ribossomais (*ITS* e *D2-D3*) e *HSP90*.

METODOLOGIA

Foram utilizadas 7 populações de *M. enterolobii* provenientes da goiabeira, pimentão, batata-doce e algodoeiro (Tabela 1).

Tabela 1 – Populações de *Meloidogyne enterolobii* usadas nesse estudo.

Código	Origem geográfica ^a	Hospedeiro	Fenótipo de Esterase
Me7	Petrolina, PE	Goiaba	En2
Me9	S. João da Barra, RJ	Goiaba	En2
Me13	Campos N. Paulista, SP	Pimentão	En2
Me14	Pirajú, SP	Pimentão	En2
Me17	Jandaíra, RN	Batata doce	En2
Me18	Paracatu, MG	Algodão	En2
Me19	São Desidério, BA	Algodão	En2

A extração de DNA foi feita em 200-400 µl de ovos de cada população e realizada de acordo com o método fenol-clorofórmio (Randig et al., 2002). As reações de PCR-RAPD (44 primers) foram feitas com volume final de 13 µl usando as condições de Randig et al. (2002). Para reação de AFLP (7 primers) o DNA genômico de cada população foi digerido e ligado a adaptadores específicos. Uma série de primers aleatórios foram utilizados. As reações foram realizadas com volume final de 25 µl seguindo as condições Suazo e Hall (1999). Os produtos de PCR de RAPD e AFLP foram separados por eletroforese em gel de agarose, corados com brometo de etídio e fotografados sob luz UV. A análise foi repetida pelo menos duas vezes. Para as análises filogenéticas, o DNA das sete populações de *M. enterolobii* foi amplificado utilizando os iniciadores para as regiões mitocondrial (*COII*), ribossomais (*ITS* e *D2-D3*) e *HSP90*. Os produtos amplificados foram separados por eletroforese em gel de agarose e sequenciados pela MacroGen® (Seul, Coreia do Sul). As árvores filogenéticas foram geradas com base na análise de máxima verossimilhança e 1000 repetições de *bootstrap*, considerando apenas valores acima de 50%.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

Quanto à diversidade genética, as duas populações do algodoeiro (raça algodão) e da goiaba mostraram agrupamentos distintos com alto suporte estatístico (*bootstrap* ≥ 95%) relacionados ao seu hospedeiro original (Figura 1), destacados em azul e verde, respectivamente.

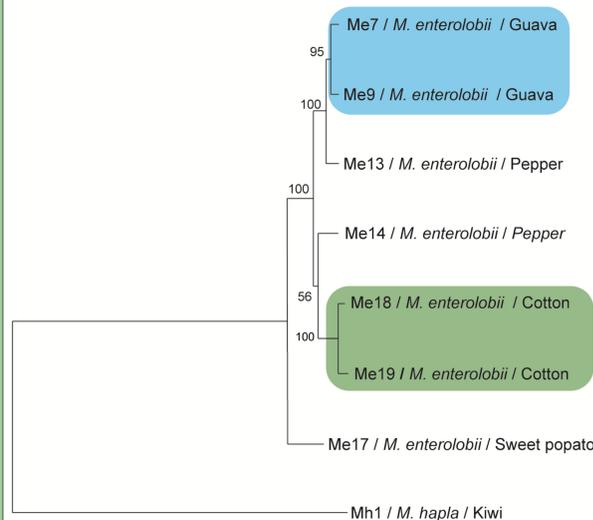


Figura 1 - Árvore concatenada da análise de variabilidade genética (RAPD e AFLP) das populações de *M. enterolobii*.

Já as duas populações do pimentão não formaram um grupo coeso, apresentando polimorfismo de apenas 19%. A população da batata-doce foi a mais diversa, com cerca de 35% de polimorfismo em relação às populações provenientes de outros hospedeiros.

As análises filogenéticas revelaram a falta de agrupamentos coesos com base no hospedeiro ou origem geográfica das populações de *M. enterolobii*, com exceção das sequências do gene *COII*, para as quais, as populações provenientes do algodoeiro agruparam-se com 92% de *bootstrap* (Figura 2), no entanto, esses resultados não podem ser extrapolados para todas as populações (e.g. população de algodão dos EUA foi agrupada com outras populações de hospedeiros distintos).

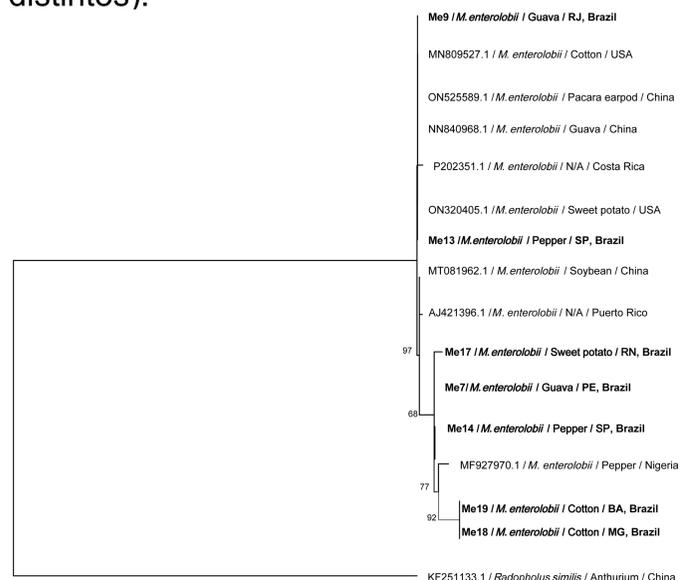


Figura 2 - Análise de máxima verossimilhança das relações filogenéticas de populações de *M. enterolobii* com base nas sequências de mtDNA *COII*.

Os resultados também mostraram que o gene *HSP90* apresentou as sequências mais variáveis dentro da espécie *M. enterolobii* e não mostrou correlação com o hospedeiro, permitindo apenas a separação das populações de *M. enterolobii* de outras espécies do gênero.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Randig, O. et al. (2002) 'Genetic diversity of root-knot nematodes from Brazil and development of SCAR markers specific for the coffee-damaging species', *Genome*, 45(5), pp. 862–870. doi:10.1139/g02-054.
- Souza, C.F.B. et al. (2022) Occurrence of a new race of *Meloidogyne enterolobii* and avirulent *M. incognita* populations parasitizing cotton in western Bahia state, Brazil. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 121, 101874.
- Suazo, A. and Hall, H.G. (1999) 'Modification of the AFLP Protocol Applied to Honey Bee (*Apis mellifera* L.) DNA', *BioTechniques*, 26(4), pp. 704–709. doi:10.2144/99264st07.