

O GÊNERO *MELOIDOGYNE* E A MELOIDOGINOSE – PARTE III

Resenha Histórica

(séculos: XIX e XX)

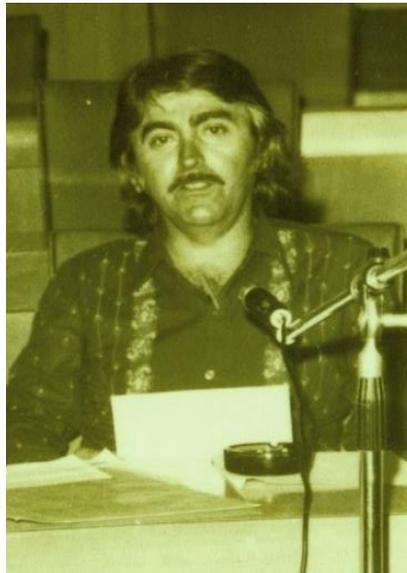
Romero Marinho de Moura

Academia Brasileira de Ciência Agronômica, Recife, Pernambuco;

Academia Brasileira de Ciência Agronômica, Recife, Pernambuco;

Universidade Federal de Pernambuco, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Micologia, Recife, PE. Brasil

Autor para correspondência: (romeromoura@yahoo.com.br)



Prof. Dr. José Júlio da Ponte

O engenheiro agrônomo Dr. José Júlio da Ponte foi professor e pesquisador de Fitopatologia e de Fitonematologia, na Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza, Ceará. Foi ganhador de muitos títulos honoríficos, obtidos à luz da competência científica e acadêmica e de uma rica produção científica. Inteligente, brilhante e irreverente, Júlio da Ponte, como era mais conhecido, tornou-se personagem inesquecível, especialmente para os seus ex-alunos e colegas de ofício que estimavam e admiravam o mestre de excepcional oratória. A esse profissional que muito contribuiu com a Fitopatologia e a Fitonematologia é dedicado, *in memoriam*, este trabalho.

Romero Marinho de Moura

Resumo

Esta revisão é de cunho histórico e tem três objetivos. O primeiro, complementar com um novo capítulo uma série de capítulos sobre o tema: “O gênero *Meloidogyne* e a Meloidoginose”. Os capítulos 1 e 2 (Partes I e II) foram publicados no periódico “Revisão Anual de Patologia de Plantas” (RAPP), da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, nos anos 1996 e 1997, respectivamente. Este, portanto, é o capítulo 3 (Parte III). Em segundo lugar, visa esta revisão, organizar o histórico da taxonomia do nematoide-das-galhas e dos assinalamentos da meloidoginose, apresentados em sequência cronológica; originários dos séculos dezanove e vinte, quando foram construídos os alicerces científicos desses temas. Com isto, também, foi proporcionada uma exposição de valiosa relação de bibliografias para os estudiosos desse importante grupo de fitopatógeno. Finalmente, é prestada uma homenagem, *in memoriam*, àquele que foi um dos expoentes da Fitopatologia e da Nematologia brasileira: o Prof. Dr. José Júlio da Ponte, docente da Universidade Federal do Ceará, onde trabalhou durante sua vida profissional.

Abstract

Romero Marinho de Moura: The Genus *Meloidogyne* and the Root-knot Disease – Part III. A Historic Review

This scientific historic review was organized with three main objectives. The first, to add one more chapter to the original set of chapters on the topic “The Genus *Meloidogyne* and the Root-Knot Disease”. The chapters 1 and 2 (Parts I and II) were published by the Annual Review of Plant Disease (*Revisão Anual de Doenças de Plantas* - RAPP), of the Brazilian Phytopathological Society, in 1996 and 1997, respectively. So, this is chapter 3 (Part III). The second objective was to build up a sound compilation on the main historical records concerning the first observations of the root-knot nematode and the root-knot disease. The last objective was to pay an honor, *in memoriam*, to one Brazilian plant pathologist and plant nematologist: Prof. Dr. José Júlio da Ponte, Full Time Professor of the *Universidade Federal do Ceará*, Brazil, where he worked along his professional life span. _____

Apresentação

Há suficientes evidências advindas de campos agrícolas, mercados consumidores e de pesquisas científicas que atestam a presença da doença meloidoginose, ou doença-das-galhas, entre os mais importantes problemas fitossanitários da agricultura mundial. Na literatura inglesa, esse mal é referido pela expressão *root-knot disease* (doença-das-galhas). A meloidoginose, que incide sobre muitas das plantas cultivadas e da vegetação natural, é causada por espécies do fitonematoide endoparasito-sedentário do gênero *Meloidogyne*

Göldi, de ampla distribuição mundial Sasser (1980). Levantamentos feitos em diversos países revelaram perdas agrícolas anuais estimadas em 15%, causadas por diferentes espécies desse parasito Carter; Sasser (1982). O problema é antigo e se admite que plantas portadoras de meloidoginose tenham sido observadas desde as antigas civilizações. Justifica-se porque a maioria das espécies vegetais afetadas pelo mal apresenta formações morfológicas bizarras, constituídas por galhas, semelhantes a tumores, engrossamentos, má formações radiculares e outras anomalias hipertróficas, em órgãos subterrâneos. A meloidoginose, que é a denominação mais utilizada no Brasil para a doença, é consequência de um processo simbiótico desarmônico, relativo à interação planta-nematoide, que resulta em sintomatologia característica. Devido a esse tipo de sintoma, a doença recebeu a denominação popular de “doença-das-galhas” e o agente causal “nematoide-das-galhas” (*root-knot nematode*). Galhas, hipertrofias e más formações são mais evidentes em raízes tuberosas e tubérculos; culturas produtoras de alimentos em quase todos os continentes, isso desde a antiguidade. Quando portadores de sintomas da meloidoginose, os produtos agrícolas tuberosos perdem o valor comercial e em alguns locais não são consumidos devido à crença popular de que fazem mal à saúde. A cenoura, o tomateiro, o inhame-da-costa e o cará São Tomé, são bons exemplos (FIGURA 1). Além de causar perdas em todo o mundo agrícola, a meloidoginose é de difícil controle e as práticas preventivas oneram significativamente os custos de produção. Nesta revisão, são mostrados dados históricos e contemporâneos sobre os temas: “nematoide-das-galhas” e “meloidoginose”, abordando-se os séculos dezanove e vinte, quando foram construídos os alicerces desses dois temas. Foi dada ênfase aos assinalamentos da doença e à taxonomia do agente causal (FIGURA 2), assuntos polêmicos ainda hoje.

Século Dezanove

O histórico do nematoide-das-galhas e da meloidoginose teve início, pode-se assim dizer, com a epidemia de uma doença, também de origem nematológica, que ocorreu na Europa, na metade do século dezanove, e que provocou a destruição da maioria dos campos de beterraba-açucareira (*Beta vulgaris*). A síndrome observada nos campos era composta por plantas com folhas amarelas, aparentando desnutrição e produtividade irrisória. A raiz tuberosa era pequena em relação às sadias e se mostrava coberta por raízes secundárias (*hairy roots*). Tudo indicava se tratar de exaustão do solo, fenômeno que passou a ser conhecido pelos alemães como *rübenmüdigkeit* (enfraquecimento da beterraba). O mal se disseminou e causou altas perdas, que foram reportadas em 1859 (SCHACHT, 1859), na Alemanha. É importante ressaltar que no século dezanove a beterraba era a única opção para produção de açúcar na Europa continental. A doença progredia celeremente, causando

problemas sócio-econômicos e permaneceu sem diagnóstico por mais de uma década. Em 1871, a causa do *rübenmüdigkeit* foi identificada como sendo o nematoide *Heterodera schachtii* n.gen. n.esp., por A. Schmidt (SCHMIDT, 1871), na Alemanha. Quase dez anos mais tarde, Strubell (1888), também na Alemanha, publicou um estudo morfológico-descritivo sobre esse nematoide tão detalhado que, segundo muitos taxonomistas, pouco foi acrescentado à morfologia geral básica dessa espécie desde então (*Untersuinchungen über den Bau und die Entwicklung des Rüben-Nematoden, Heterodera schachtii Schmidt*). Essa espécie, juntamente com as demais que seriam descritas décadas depois, passariam a constituir um grupo de fitonematoides denominado “nematoides-de-cisto”, por serem as únicas que formam essa estrutura de resistência (cisto), que tem por função a proteção dos ovos e a sobrevivência do organismo no campo, quando sob condições ambientais adversas. Os nematoides-de-cisto não induzem formação de galhas radiculares. Pergunta-se então: qual a relação entre os trabalhos de Schmidt (1871) e Strubell (1888) e os nematoides-das-galhas, que pertencem a outro grupo parasitário de fitonematoides? A resposta se encontra no fato de que, em 1872, ano seguinte ao trabalho de A. Schmidt, o naturalista R. Greeff, também na Alemanha, encontrou e estudou um quadro parasitário, em quatro espécies de planta, caracterizado por hipertrofias radiculares, ou galhas, (em alemão: *gallen*), contendo nematoides no interior. As espécies de planta foram: *Poa annua*, *Triticum repens*, *Sedum* sp. e *Dodartia orientalis*, todas gramíneas. As observações de R. Greeff foram publicadas no trabalho intitulado *Ueber Nematoden in Wurzelanschwellungen (Gallen) Verschiedener* [A respeito de nematoides em diferentes hipertrofias (galhas) radiculares] (GREEFF, 1872). Essa foi a primeira referência sobre galhas radiculares associadas à presença de nematoide. Anos mais tarde, essa publicação proporcionou interpretações equivocadas por diversos autores, criando controvérsias no histórico do nematoide-das-galhas, em especial no que concerne o nome científico do parasito. Devido à presença de galhas na descrição sintomatológica feita por R. Greeff, algumas pessoas passariam a acreditar, mais tarde, que o trabalho daquele autor teria sido o primeiro assinalamento do real nematoide-das-galhas, o que não foi, conforme será mostrado adiante. R. Greeff designou o nematoide encontrado nas galhas daquelas gramíneas de *Anguillula radicola* Greeff, 1872. É importante lembrar, neste ponto, que outros organismos podem induzir formações radiculares parecidas com galhas da meloidoginose. São exemplos de indutores de galhas radiculares espécies de certos fitonematoides, a exemplo de *Ditylenchus* spp., *Hemicycliophora* spp. e *Xiphinema* spp., entre outros. Igualmente, alguns insetos, caso de *Phylloxera vastatrix* em videira. Também, bem conhecidos, são os nódulos resultantes das associações entre bactérias nitrificantes e leguminosas. Na Fitopatologia, são conhecidos os sintomas induzidos pela fitobactéria *Agrobacterium tumefaciens*, causadora da galha-de-coroa, em muitas culturas, e pelo fungo *Plasmodiophora brassicae*, em diversos tipos de brássicas. Portanto, a simples

presença de galhas radiculares em raízes não indica necessariamente casos de meloidoginose.

Três anos após o trabalho de R. Greef, o naturalista italiano G. Licopoli relatou a presença de pequenos vermes dentro de galhas radiculares da planta *Sempervivum tectorum*, na Itália. Seu trabalho, *Sopra alcuni tubercoli radiculari continente anguillule* (LICOPOLI, 1875), foi publicado nos Anais da Academia de Ciência de Nápoles, periódico de pouca circulação, e, portanto, de difícil consulta na época. O autor não deu nenhuma designação ao parasito, mencionando-o, apenas, como um anguilula (pequeno verme). Analisando a descrição original apresentada por Licopoli, Whitehead (1968), um dos mais importantes revisores do grupo dos nematoides-das-galhas, conforme será mostrado adiante, afirmou ter convicção de que o trabalho de Licopoli foi, de fato, a primeira constatação da meloidoginose. Essa evidência, entretanto, não foi corroborada pelos autores posteriores a Whitehead.

Em 1878, M.C. Jobert, natural da França, veio ao Brasil para estudar uma doença que afetava significativamente a produção do principal artigo de exportação do país; o café. As conclusões dos seus estudos, resultantes de observações de campo e das formas biológicas do nematoide encontrado associado às galhas, foram publicadas no artigo com o título *Sur une maladie du caféier au Brésil*, nos Anais da Academia Ciência da França (Paris) (JOBERT, 1878). Esse foi o primeiro trabalho de Fitonematologia brasileiro (FIGURA 3) e o primeiro relato da meloidoginose no mundo. O trabalho foi matéria escrita em duas páginas, sem figuras, onde o autor se referiu à ocorrência de uma doença do cafeeiro em plantações da Fazenda São Clemente, da localidade Cantagalo, na então Província do Rio de Janeiro. Jobert fez descrições sintomatológicas e registrou a presença de um verme e de ovos, contendo larvas (*sic*), no interior de nodosidades. O autor não mencionou assinalamentos precedentes e, quanto ao organismo associado, afirmou se tratar de um *anguillule* (do latim *anguillulan*). No francês, *anguillule* é sinônimo de nematoide. M.C. Jobert comparou plantas sadias com plantas doentes e locais de ocorrência. Discutiu nodosidades radiculares e referiu-se ao nematoide também pelo termo *kysts*. Afirmou que pode existir *plus de 30 millions d' Anguillules par Caféier*.

Em 1879 foi criada uma designação taxonômica binominal para o agente da doença-das-galhas. O responsável foi o francês M. Cornu, com matérias publicadas também nos Anais da Academia de Ciência de Paris. Cornu desenvolveu observações histológicas detalhadas em galhas de raízes de *Onobrychis sativa*, distinguindo-as daquelas causadas *Phylloxera vastatrix*, inseto sugador do sistema radicular da videira, que induz galhas ou tumores radiculares. Aliás, o estudo desse parasito era o principal objetivo da sua pesquisa (*Études sur le Phylloxera vastatrix*), Cornu, 1879a. A segunda

publicação (CORNU, 1879b) foi *Sur une maladie qui fait périr lês rubiacées des serres chaudes (Anguillules)*. Essas investigações, que foram desenvolvidas na localidade *Chateaufort-sur-Loire*, na França, possuem densidade científica considerável, são ricas em detalhes biológicos e, por isso, foram bem aceitas pelos naturalistas. Nos trabalhos, especialmente Cornu (1879b), o autor apresentou dados sobre desenvolvimento embrionário do nematoide-das-galhas, mostrou suas formas biológicas e verificou modificações histológicas em tecidos parasitados. Segundo Franklin (1957), M. Cornu, em seus comentários, não tinha convicção de que o nematoide que tinha em mãos fosse relacionado com *Heterodera schachtii*. Por isso, sentindo-se inseguro, não teve condições de colocá-lo no gênero *Heterodera* e preferiu criar uma nova designação *Anguillula marioni* (Greef, 1872) Cornu 1879.

Na década seguinte, outro naturalista alemão complicou o estudo da histórica dos assinalamentos das meloidoginoses e das designações do nematoide-das-galhas. O motivo foi o seu trabalho *Mitteilungen über die unseren kllturpflanzen schädlichen das geschlecht Heterodera bildenden würmer* (MÜLLER, 1884). De fato, tendo esse autor encontrado plantas das mesmas espécies botânicas analisadas por R. Greef em 1872, igualmente portadoras de galhas radiculares, imaginou que se tratava do mesmo nematoide (*Anguillula radicolica*) e que a doença estudada por R. Greef teria sido a mesma estudada por esses predecessores acima apresentados. Na ocasião, C. Müller decidiu por um novo diagnóstico taxonômico. Por acreditar que o achado se tratava de um novo assinalamento do gênero *Heterodera*, descrito pelo seu compatriota A. Schmidt, em 1871, evitou o nome genérico *Anguillula* e criou uma nova combinação *Heterodera radicolica* (Greef, 1872) Müller, 1884. Essa nova denominação se popularizou e perdurou até 1932, portanto; 48 anos.

Em 1855 foi publicado o primeiro assinalamento da doença-das-galhas radiculares em periódico de ampla circulação e ao alcance da maioria dos naturalistas. O autor foi M.J. Berkeley (FIGURA 4), na Inglaterra; um reverendo religioso, naturalista, micólogo e famoso pelos seus trabalhos e pesquisas com fungos fitopatogênicos. A doença-das-galhas que M. J. Berkeley registrou foi vista em raízes de pepino, com as plantas cultivadas em casa de vegetação (FIGURA 4). Berkeley publicou suas observações no *Gardner's Chronicle*, com o título *Vibrio forming cysts on cucumber* (Berkeley, 1885). Na ocasião, o autor registrou a associação entre as galhas (doença) e um pequeno verme, que denominou de *Vibrio*. O termo *vibrio* já havia sido utilizado para nome de gênero de outros nematoides [*Vibrio tritice* Steinbuch, 1799 = *Anguina trititici* (Steinbuch, 1799) Chitwood, 1935]. Com informações convincentes em uma publicação ao alcance de muitos de seus pares, Berkeley passou a ser considerado a primeira pessoa a assinalar a doença *root knot*. Entretanto, a denominação do agente causal permaneceu na mesma situação, pois o termo

Vibrio não viria a ser repetido pelos autores seguintes ao mencionarem os nematoides-das-galhas.

Nas duas últimas décadas do século dezenove, foram feitos alguns assinalamentos da meloidoginose que merecem destaque. O primeiro por Treub (1885), em cana-de-açúcar, em material originário do Jardim Botânico de *Buitenzorg*, em Java. M. Treub identificou o parasito como *Heterodera javanica*, distinguindo-o de *Heterodera radicolica* por micrometria. Complementando o estudo, o autor fez descrições de detalhes morfológicos. Desde o seu assinalamento, esse nematoide, passou a ser referido popularmente como “o nematoide da cana-de-açúcar”, um dos principais problemas fitossanitários dessa gramínea, em todo o mundo canavieiro. O segundo assinalamento no fim do século dezenove que merece destaque foi de E.A. Göldi, dois anos após, no Brasil. E.A. Göldi (FIGURA 5), que era suíço, mais tarde naturalizado brasileiro, foi convidado pelo Governo Imperial brasileiro para pesquisar um importante problema fitossanitário do cafeeiro; o mesmo anteriormente analisado por M.C. Jobert, em 1878. A doença permanecia sem solução e se constituía numa séria ameaça à produção nacional dessa rubiácea. As perdas eram alarmantes e, devido à doença, muitas áreas produtoras de café da então Província do Rio de Janeiro foram transformadas em canaviais, situação que prevalece até hoje. Após alguns anos de pesquisas, E.A. Göldi publicou os seus resultados de pesquisas de campo e de laboratório em um Relatório Técnico em 1887 (GÖLDI, 1887). No relatório, o autor fez o assinalamento e descrição do nematoide-das-galhas, indicando-o como o agente etiológico do mal. Documentou quantitativamente as perdas por propriedade rural, descreveu com detalhes o parasito, mostrando por micrografias todos os estádios de desenvolvimento (FIGURA 5). Destacou, com detalhes, as principais vias de disseminação da doença, orientando os agricultores. Pela primeira vez o nematoide-das-galhas era apresentado como responsável por perdas econômicas significativas na agricultura, semelhantemente ao que havia sido registrado por Schacht (1859), na Alemanha, quando da ocorrência do nematoide-de-cisto da beterraba-açucareira. O nematoide foi descrito em todos os seus detalhes morfológicos, pela primeira vez. Ainda sobre a doença, E.A. Göldi se tornou o primeiro a constatar e relatar uma interação entre um fungo (pela micrografia se tratava do gênero *Rhizoctonia*) e o parasitismo de um nematoide, aumentando a severidade da doença. E.A. Göldi afirmou ser o fungo um companheiro de campo do nematoide. Esse foi o primeiro trabalho de Fitonematologia publicado no Brasil. M.C. Jobert (1878), em seu trabalho sobre a mesma doença, já havia mencionado a presença de micélio fúngico em tecidos infectados pelo nematoide, sem lhe atribuir participação na patogênese. No diagnóstico do nematoide, E.A. Göldi criou o nome genérico *Meloidogyne* (*melon* = melão; *gyne* = fêmea), ou seja, fêmeas em forma de melão, e apresentou *Meloidogyne exigua* Göldi como a espécie-tipo. Essa espécie passou a ser referida como “o nematoide-do-cafeeiro” até hoje. Devido

à riqueza dos detalhes fitopatológicos e nematológicos, considerados de excepcional qualidade para à época, o trabalho de E.A. Göldi, que teve por título “Relatório sobre uma moléstia do cafeeiro na Província do Rio de Janeiro”, foi reeditado por Moura (1998). Como apêndice à publicação, constou o artigo de M.C. Jobert (1878), em francês. Devido às dificuldades nas comunicações científicas do século dezanove, essa importante publicação que institucionalmente era e ainda é da responsabilidade do Museu Nacional do Rio de Janeiro, não teve uma circulação adequada entre os naturalistas da época.

Continuando com os registros, a última década do século dezanove, o norte-americano N.A. Cobb, que se encontrava trabalhando no início da sua vida profissional na Europa, relatou uma ocorrência da doença-das-galhas em batatais do País-de-Gales, causando perdas significativas, Cobb (1890). Esse pesquisador, de notável talento científico, e que viria a ser aclamado “Pai da Nematologia Norte-Americana”, confessou-se incapaz de identificar a espécie do parasito, o que comprova a dificuldade que os pesquisadores encontravam na identificação taxonômica desse nematoide. Esse fato é uma indicação de que o trabalho de E.A. Göeldi não estava circulando entre os fitonematologistas. As últimas publicações sobre assinalamentos do nematoide-das-galhas no século dezanove foram de dois pesquisadores norte-americanos, trabalhando nos Estados Unidos. A primeira Neal (1889), com o registro da doença em amendoineiro e outras culturas, na Flórida. O autor referiu-se ao agente causal com uma nova designação: *Anguillula arenaria* Neal (*Anguillula* criado por R. Greef, 1872) . Esse nome específico viria a ser popularizado mais tarde, por ocasião da primeira grande revisão taxonômica do grupo dos nematoides-das galhas. No trabalho, J.C. Neal descreveu pontos fundamentais do ciclo de vida do parasito. Mais adiante no mesmo ano, Atkinson (1889) publicou dados básicos do ciclo de vida do nematoide-das-galhas, identificado no estudo pela antiga denominação *Heterodera radiculicola*. Nada de novo no que concerne à taxonomia do parasito foi acrescentado. Décadas mais tarde, um fato mencionado nesses dois últimos trabalhos foi considerado relevante no estudo dos nematoides-das-galhas. Foram as observações conflitantes apresentadas pelos dois autores em relação à susceptibilidade de algumas plantas, após inoculações com o nematoide. Enquanto algumas espécies se mostraram susceptíveis à vista de um autor, essas mesmas espécies, à vista do outro, mostraram-se resistentes. Essas observações seriam interpretadas no futuro como exemplos de variações parasitárias de populações do nematoide.

Século Vinte

Na passagem do século dezanove para o século vinte as denominações *Heterodera radiculicola* e *Anguillula marioni* eram as duas mais utilizadas, senão as únicas. O termo *Meloidogyne* não havia sido mencionado.

Os primeiros assinalamentos do nematoide-das-galhas no século vinte foram feitos em videiras, em duas publicações separadas, por um mesmo autor; Lavergne (1901a,b). Esse autor nomeou o nematoide encontrado de *Anguillula vialae*; uma nova designação. Entretanto, segundo Whithead (1968), esses dois artigos trouxeram informações imprecisas, dignas de questionamento. Realmente, as mensurações dos ovos encontradas por Lavergne foram da ordem de 20-30µm de comprimento, não sendo corretas. Whitehead justificou afirmando que, na verdade, esses valores correspondiam à metade do valor médio para qualquer espécie do gênero descrita até a data do questionamento (1967), que se verificou como verdadeiro para as demais espécies descritas até hoje. Os estudos sobre os nematoides-das-galhas praticamente cessaram até o início da segunda década do século vinte devido a Primeira Guerra Mundial (1914-1918) que destruiu a Europa e o Japão e paralisou os Estados Unidos.

Após a Guerra, em 1919, aconteceu um fato curioso que seria considerado nas discussões referentes ao tema taxonomia dos nematoide-das-galhas, trinta anos mais tarde. O fato aconteceu num quartel do Exército, em *Camp Travis*, estado do Texas, Estados Unidos. Dois médicos parasitologistas, C. A. Kofoid e W. A. White, encontraram ovos “estranhos”, com alta frequência, em exames de fezes de soldados. Ambos passaram a acreditar que esses ovos eram de um parasito intestinal de humanos, ainda não registrado. Nas investigações, não foram encontradas formas adultas nem juvenis. Entretanto, diante seguidas constatações, os dois médicos tomaram a iniciativa de fazer o registro científico por meio da publicação *A new nematode infection in man* (KOFOID ; WHITE, 1919), no *Journal of American Medical Association*. Os autores afirmaram que os ovos encontrados eram produzidos por um *Oxyuris*, designado *Oxyuris incognita* n.sp. Mais tarde, Sandground (1924), um atuante fitonematologista, em sua publicação: *Oxyuris incognita or Heterodera radicolola?* demonstrou que o trabalho de C.A. Kofoid e W.A. White era fantasioso, pois não se tratava de ovos de parasito de humanos e sim do nematoide-das-galhas, presentes em alimentos consumidos pelos soldados. Dois anos antes dessa contestação, J. Sandground, havia se tornado o primeiro nematologista a sugerir a possibilidade da existência de mais de uma espécie para os nematoides-das-galhas, fundamentando-se em contagens da produção de massas de ovos e eclosão de juvenis, em plantas de batata e antúrio [SANDGROUND (1922)]. Suas conclusões, entretanto, não foram precisas e não receberam crédito suficiente, pois o autor alegou que outros fatores poderiam ser responsáveis pelas variações do padrão reprodutivo do nematoide que tivera em mãos. O nematoide-das-galhas, portanto, permanecia como espécie única, muito embora fosse referido por um dos dois nomes científicos, que lhe eram atribuídos (*Heterodera radicolola* ou *Anguillula marioni*). Dois anos mais tarde, N.A. Cobb, já de volta aos Estados Unidos, fez incursões no estudo de identificação dos nematoides-das-galhas, porém

sem sucesso. Acreditando que existiam diferenças morfológicas suficientes entre o nematoide-das-galhas e o nematoide-de-cisto resolveu criar o subgênero *Caconema*, formando o binômio *Caconema radicolus* (Greef, 1872), Cobb, 1924. A diferenciação se fundamentou em quatro caracteres que se encontram nos nematoides-das-galhas: 1- presença de bochechas (*cheeks*), que seriam alargamentos dos lábios laterais, protegendo as aberturas anfidiais; 2- ser tipicamente endoparasito; 3- ser possuidor de maior diversidade parasitária (maior quantidade de espécies de plantas hospedeiras); e 4- os machos possuírem apenas um testículo (COBB, 1924). Esta nova denominação não prevaleceu.

Tom Goodey (1932a,b), analisando originais nematológicos históricos, na Inglaterra, revelou que o nematoide encontrado e descrito por R. Greef (1872), em raízes de gramíneas, na Alemanha, conforme mencionado anteriormente, não era o nematoide-das-galhas nem o nematoide-de-cisto, conforme supôs C. Müller em 1884. Tratava-se, sim, de espécimes de *Anguillulina* (endoparasito migrador), gênero descrito por Gervais e von Beneden em 1859, que contém apenas formas vermiformes (*Anguillulina* Gervais & Von Beneden 1859 = *Ditylenchus* Filipjev, 1936), atualmente conhecido por “nematoide dos caules e dos bulbos”. T. Goodey justificou sua conclusão afirmando que, ao criar o binômio *Heterodera radicolus* em 1884, C. Müller certamente não havia lido o trabalho de R. Greef (1872), nem examinado convenientemente o próprio material que tivera em mãos (*sic*). Se não tivesse assim procedido, teria constatado que R. Greef não mencionou as formas biológicas do nematoide-das-galhas, as quais, por certo, não estariam presentes no material que tivera (C. Müller) em mãos e que originou à sua publicação. Essas conclusões em nada descredenciaram o trabalho de R. Greef, e, em atitude respeitosa, ao revisar o então gênero *Anguillulina*, em Goodey (1932a), o autor considerou o termo radicolus, quando o colocou no binômio *Anguillulina radicolus* (Greef, 1872) Goodey, 1932. Igualmente, por ocasião da revisão do grupo dos nematoides dos caules-e-bulbos, com consequente criação do gênero *Ditylenchus* por Filipjev (1936) esse autor levou em consideração o trabalho de R. Greef (1872), nomeando uma das novas espécies *Ditylenchus radicolus* (Greef, 1872) Filipjev 1936. T. Goodey, porém, continuou acreditando que o nematoide-das-galhas pertencia ao gênero *Heterodera*. Devido a isso, e considerando o histórico dos fatos acima mencionados, substituiu o nome específico criado por Müller (1884) pela designação específica de Cornu (1879b), formando um novo binômio *Heterodera marioni* (Cornu, 1879) Goodey, 1932; (GOODEY, 1932a,b). É importante o registro, neste momento, de que a publicação de Goodey (1932b) foi o primeiro livro texto de Fitonematologia, teve por título: *Plant Parasitic Nematodes and the Diseases they Cause*. O tipo de impressão gráfica, a qualidade das fotos, as micrografias e o conteúdo desse livro são reconhecidos como excelentes para a época. Por fim, outra publicação, que pode ser

considerada, direta ou indiretamente, relacionada com a taxonomia dos nematoides-das-galhas, foi a de Tyler (1933), na qual relatou a reprodução do parasito na ausência de machos, fato, aliás, já abordado em Byars (1914).

Um longo vazio científico ocorreu durante e logo após a Segunda Guerra Mundial (1939-1945), especialmente na Europa. Assim, dezessete anos se passaram desde os trabalhos de Goodey (1932a,b) sem que nada de significativo acontecesse em termos de taxonomia dos nematoides-das-galhas, prevalecendo o binômio *Heterodera marioni*, até 1949. Devido à desinformação, ou opção pessoal, o binômio *Heterodera radicolica* foi utilizado em poucas publicações, especialmente por fitopatologistas brasileiros. Em concordância, entretanto, todos acreditavam que se tratava de espécie única.

Até a metade do século vinte, N.A. Cobb nos Estados Unidos e T. Goodey na Inglaterra eram considerados os expoentes da Fitonematologia mundial, com biografias memoráveis. Nas suas produções científicas predominam coerência, competência e precisão técnica. Entretanto, as suas contribuições ao conhecimento da taxonomia dos nematoides-das-galhas foram pouco significativas. A criação do gênero *Caconema* por N.A. Cobb se mostrou inconsistente e não foi acatada pela comunidade científica. Quanto ao binômio *Heterodera marioni* estabelecida por T. Goodey, foi um equívoco, pois o nematoide-das-galhas não produz cisto, portanto, não deveria ter sido colocado no gênero *Heterodera*.

Diversidade parasitária entre populações de *Heterodera marioni* e o conceito de raças parasitárias

A partir de Goodey (1932a,b), os casos de meloidoginose passaram a ser diagnosticados como causados por *Heterodera marioni*. Era uma situação semelhante ao que ocorria com *Heterodera schachtii*, desde Schmidt (1871). Os fitonematologistas acreditavam serem ambas espécies únicas com *H. marioni* possuindo lista significativamente maior de plantas hospedeiras. Surgiu, então, a questão: teriam todas as populações de *H. marioni* o mesmo comportamento parasitário? Em outras palavras, atacariam as mesmas espécies de plantas? Esta questão já havia sido observada preliminarmente, analisando-se os trabalhos de Neal (1889) e o de Atkinson (1889), conforme anteriormente ressaltado. De fato, esses dois autores relataram resultados conflitantes, ou seja, opostos, obtidos por meio de inoculações fidedignas em *Amaranthus spinosus* e *Lespedeza striata*. Este fato, aparentemente, não chamou atenção dos pesquisadores da época. Entretanto, observações semelhantes, envolvendo outros gêneros e espécies de fitonematoide e diferentes espécies de planta foram sendo feitas e catalogadas por autores em

anos seguintes. O fato foi se tornando evidente a partir dos anos 1930. Eram grupo de populações ou uma única população de uma mesma espécie de fitonematoide com habilidade de parasitar certas espécies de planta, enquanto outras populações da mesma espécie não eram capazes de fazê-lo. Mais tarde, os nematologistas passaram a denominar essas populações variantes (diferentes em parasitismo) de raças parasitárias ou raças biológicas. T. Goodey (1932b) dedicou o último capítulo do seu livro ao tema *Biological Races in Plant-Parasitic Nematodes*, incluindo dados relativos a diversos gêneros e espécies, até mesmo de *Heterodera schachtii*, mas não incluiu *Heterodera marioni*. No final da década de 1930, nos Estados Unidos, surgiram fortes e novas evidências de que *H. marioni* possuía raças parasitárias. De fato, isso ocorreu quando Day; Tufts (1940) revelaram inconstância da resistência de plântulas de pessegueiro da variedade Shalil ao parasitismo de *H. marioni*, reforçando as observações de Neal (1889) e Atkinson (1889) trabalhado com outras plantas. Na década de 1940, as publicações sobre o tema raças biológicas se intensificaram e a primeira de destaque foi de Sherbakoff (1940). Esse pesquisador constatou que algodoeiros eram muito parasitados pelo *root-knot nematode* em solos antes cultivados com algodoeiro, mas tal fato não ocorria em solos previamente cultivados com tomateiros. Finalmente, Christie; Albin (1944), Christie; Havis (1948) e Reynolds (1949), pesquisadores radicados na Flórida, provaram, experimentalmente, com confiabilidade acima de qualquer dúvida, que *H. marioni* possuía raças parasitárias. Tais conclusões foram feitas à luz de coletas de populações do nematoide-das-galhas, parasitando diferentes espécies vegetais, em diferentes regiões dos Estados Unidos. Essas populações, devidamente catalogadas, foram mantidas sob condições de casa de vegetação, em especial na Universidade da Flórida, em Gainesville, por J. R. Christie. Em condições controladas foram feitas inoculações cruzadas e constatada, sem qualquer dúvida, diversidade parasitária entre populações de *H. marioni* e que, portanto, o nematoide-das-galhas possuía populações diferenciadas em parasitismo.

Criação de espécies morfológicas do nematoide-das-galhas: O Método Chitwood”

Após o descobrimento da diversidade parasitária entre populações de *Heterodera marioni*, a questão passou a ser: seria possível separar as populações diferenciadas por meio de um critério morfológico, permitindo a criação de diferentes espécies do nematoide? Caso possível, haveria a possibilidade para que cada espécie do nematoide pudesse ser relacionada a uma lista de plantas hospedeiras. As consequências desse fato seriam agronomicamente de valor significativo, pois tornaria possível o controle da doença-das-galhas por meio de rotação de culturas, utilizando-se plantas não hospedeiras da espécie presente no campo. As pesquisas sobre o assunto tiveram início na Flórida, sob liderança do mesmo J.R. Christie (FIGURA 6). No

início das suas pesquisas não foram obtidos resultados animadores. À primeira vista, ao se comparar morfológicamente espécimes das populações diferenciadas em parasitismo, nada era constatado, reforçando-se o conceito de espécie única. Segundo J.N. Sasser (em informação pessoal), encontrando-se B.G. Chitwood (FIGURA 7) em período sabático, foi convidado por J.R. Christie para examinar morfológicamente, de modo comparativo, as populações catalogadas do nematoide-das-galhas constantes da sua coleção. B.G. Chitwood já era reconhecido nos Estados Unidos como notável nematologista e um dos mais destacados especialistas em Zoologia de Invertebrados. Após aceitar o desafio e de se submeter a uma exaustiva pesquisa microscópica, B.G. Chitwood admitiu que obteve sucesso e publicou, em 1949, no *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, o trabalho *Root-knot nematodes – Part I. A revision of the genus Meloidogyne Göldi 1887*, (Chitwood, 1949). O trabalho foi de início considerado memorável. Era a segunda revisão taxonômica do grupo e as outras viriam bem mais tarde. O autor considerou como caráter diferenciador das espécies uma figura morfológica, formada pelas estrias transversais do corpo das fêmeas adultas, circundando o períneo. Mostrou B.G. Chitwood que essas estrias ao atingirem a região perineal, onde se localizam ânus, vulva e, nesse nematoide, os fasmídios, circundam essa área, formando uma figura típica, possível de ser diferenciadora de populações, nos moldes de impressão digital de humanos. Essa figura passou a ser denominada “padrão perineal” ou configuração da região perineal (*perineal pattern*). Com isso, B.G. Chitwood identificou seis tipos diferentes de padrões perineais, cada um associado a um grupo de populações. As populações portadoras de cada tipo de padrão perineal passaram a constituir uma espécie morfológica (FIGURA 7). O autor considerou também outros caracteres que ajudariam na identificação específica e, com isso, estabeleceu uma dicotomia explicitada numa chave. Também, foram considerados os formatos dos bulbos do estilete, em machos, fêmeas e juvenis, a distância da abertura da glândula dorsal à base do estilete em fêmeas adultas; entre outros caracteres. A publicação de B.G. Chitwood é rica em micrografias e em dados micrométricos. Inclui adequadas microfotografias dos padrões perineais, até hoje tidas por muitos como inconfundíveis. Na prática, o caráter diferenciador principal, entretanto, passou a ser o padrão perineal. Na revisão, foi desconsiderado o binômio *Heterodera marioni* e revalidado o termo *Meloidogyne*, criado por Göldi no Brasil, em 1887. Na ocasião, foram descritas cinco espécies e duas variedades (*sic*). Quanto aos nomes das espécies, B.G. Chitwood deu crédito a antigos autores, do seguinte modo:

- 1- *Meloidogyne incognita* var. *incognita* (Kofoid & White, 1919) n.com. n.var. Chitwood, 1949;
- 2- *Meloidogyne incognita* var. *acrita* (Kofoid & White, 1919) n.var. Chitwood, 1949;

- 3- *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) n.com. Chitwood, 1949;
- 4- *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889) n.com. Chitwood, 1949;
- 5- *Meloidogyne hapla* n.sp. Chitwood, 1949;
- 6- *Meloidogyne exigua* Göldi, 1887.

Os detalhes morfológicos diferenciadores e o padrão perineal de *Meloidogyne javanica* apresentados por Chitwood (1949), podem ser vistos como exemplo ilustrativo dessa importante publicação na FIGURA 7.

O Método Chitwood foi recebido com certo ceticismo por muitos nematologistas e fitopatologistas, por vários motivos. Em primeiro lugar, pelos conceitos zoológicos considerados muito pessoais do autor, a exemplo questão “variedade” em Nematologia. Em segundo lugar, pela pouca segurança na apresentação de certos critérios taxonômicos, pautados em algumas afirmações contraditórias. Em terceiro lugar, pelo fato da prática de identificação do padrão perineal ter sido considerada subjetiva e sem precisão científica. B.G. Chitwood parecia estar com pressa ao divulgar a sua descoberta. Por exemplo, no que concerne à criação da forma *M. incognita* var. *incognita*, o autor tomou uma decisão inusitada. Como base do diagnóstico desse táxon, considerou as lâminas permanentes, preparadas em 1919 (portanto, na sua época, há trinta anos passados) pelos médicos parasitologistas C.A. Kofoid e W.A. White, mencionados anteriormente. Essas lâminas continham ovos de um suposto parasito intestinal de humanos, identificado pelos dois médicos como *Oxyuris incognito*, fato que foi contestado por Sandground (1924). B.G. Chitwood examinou pessoalmente esse material preservado e comparou com ovos de uma população do nematoide-das-galhas que tinha em mãos, parasitando cenoura (*Daucus carota* var. *sativa*). Não encontrando diferenças, considerou-os como da mesma população e passou a considerar cenoura como o hospedeiro tipo da espécie que iria criar. Em reconhecimento ao relato dos médicos, criou o binômio *Meloidogyne incognita* var. *incognita*, prestigiando a forma *Oxyuris incognito*, o suposto, nunca comprovado parasito intestinal de humanos. Entretanto, o ponto mais discutível e que geraria ainda mais controvérsias foi a justificativa para a criação do táxon variedade entre os nematoides-das-galhas. De acordo com o autor, variedades seriam populações de uma espécie já descrita portadoras de alterações no padrão perineal não suficientemente marcantes para a criação de outra espécie. Com isso, foram separadas *Meloidogyne incognita* var. *incognita* e *M. incognita* var. *acrita*. No que concerne esta última, que parasitava algodoeiro (*Gossypium barbadense*), B.G. Chitwood mostrou pouca segurança no seu diagnóstico, ao afirmar: “... *It would be remiss not to mention that twice we have encountered individual females in which the perineal pattern on one side of the body was that of Meloidogyne incognita and on the other side was one instance Meloidogyne incognita var. acrita and in the other case it was Meloidogyne javanica. Both cases occurred in mixed natural populations*”.

Pequenas outras incongruências podem ser vistas ao longo das demais descrições das espécies. Esses fatos geraram fortes discussões.

Curiosamente, o Método Chitwood, mesmo enfrentado críticas, despertou interesse em muitos nematologistas, em todo o mundo. Esses nematologistas aceitaram o sistema de identificação proposto e colocaram-no em prática rotineira. Os adeptos do método passaram a identificar populações de campo com baixo grau de dificuldade e com crescente confiabilidade, no mundo inteiro. O Método Chitwood poderia ser executado por qualquer laboratorista treinado, sendo pouco dispendiosa. Muito cedo, o método passou a ser utilizado por quase todos nematologistas taxonomistas *stricto sensu* e pelos taxonomistas que não eram do ofício.

Incomodados por resultados inconstantes de campo, os fitopatologistas reagiram negativamente em relação à aceitação do Método Chitwood e contestavam a sua confiabilidade, especialmente nos Estados Unidos. Seis anos após M.B. Chitwood (1949), Taylor et al. (1955) publicaram no periódico *Phytopathology, da American Phytopathological Society*, o trabalho *Perineal patterns of root-knot nematodes*. Essa publicação, que vinha de um pesquisador com reconhecimento nacional, continha muitas microfotografias de regiões perineais e uma chave dicotômica para identificação de espécies. Pelo fato de se tratar de um periódico de Fitopatologia, a publicação promoveu aumento na credibilidade do Método Chitwood entre fitopatologistas, ansiosos por planos de rotação de culturas mais seguros e com mais fundamentação científica. Taylor, com seus colaboradores, confirmou a teoria de B.G. Chitwood, afirmando que cada espécie e subespécie (foi retirado o termo variedade) possuía padrão perineal típico, diferente das demais. Afirmaram, também, que ocorrem espécimes variantes do padrão perineal típico dentro de uma mesma população. Acredita-se que a partir dessa publicação as identificações de espécies passaram a ser mais aceitas pelos fitopatologistas norte-americanos. Pouco a pouco, entretanto, as espécies de B.G. Chitwood passaram a ser assinaladas em muitos países. Nos trópicos, tomando-se, por exemplo, o Nordeste do Brasil, verificou-se, de início, a predominância das espécies *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*, especialmente as duas primeiras. Essas três espécies possuem padrões perineais bem definidos, fáceis de serem identificados, utilizando-se as boas descrições fotográficas e micrográficas da publicação Chitwood (1949). Pesquisadores nordestinos, a exemplo de R.M. Moura e colaboradores em Pernambuco e J.J. da Ponte e colaboradores no Ceará realizaram diagnósticos preciosos para a época, nas últimas décadas do século vinte e início do vinte e um. Eram populações coletadas em diferentes estados da região, parasitando diferentes hospedeiros. São exemplos os trabalhos de Ponte; Castro (1975) e Moura et al. (2000). Na prática, o diagnóstico de uma população pelo Método Chitwood era obtido mediante análise de um mínimo de dez padrões perineais. Em estimativa

pessoal (dados não publicados), em média, encontrava-se numa população de campo uma proporção de 60% de indivíduos com padrões perineais típicos de uma das espécies descritas e 40% de formas intermediárias; algumas com pouca definição diagnóstica e outras atípicas. Tudo de acordo com o que havia sido indicado por Chitwood (1949) e Taylor et al. (1955). Os 60% de padrões repetidos, bem definidos, eram suficientes para o convencimento diagnóstico do analista que, muitas vezes, detectava, também, populações mistas (misturas de espécies). No Brasil, o maior destaque pioneiro nas ações de identificação e descrição de espécies do gênero *Meloidogyne*, obedecendo Chitwood (1949), foi L.G.E. Lordello, nas décadas de 1950; 60 e 70, trabalhando na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz, da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, São Paulo. L.G.E. Lordello foi autor de diversos diagnósticos até hoje aceitos, referentes a importantes novas espécies brasileiras responsáveis pela doença-das-galhas, nessa época já começando a ser referida popularmente por meloidoginose (FIGURA 8).

O Período Pós-Chitwood

Ao longo da primeira década após o trabalho de Chitwood em 1949, quatro novas espécies e uma subespécie (ainda classificada como variedade, descrita, aliás, pelo próprio B.G. Chitwood) foram assinaladas: *Meloidogyne arenaria* var. *thamesi* Chitwood, 1952 (CHITWOOD ET AL., 1952); *M. brevicauda* Loos, 1953 (LOOS, 1953); *M. acronea* Coetzee, 1956 (COETZEE, 1956) e *M. inornata* Lordello, 1956 (LORDELLO, 1956 APUD CARNEIRO ET AL., 2008).

Ainda na década dos anos cinqüenta, B.G. Chitwood e colaboradores [CHITWOOD ET AL. (1956)] descreveram o nematoide-cistoide (*cystoid nematode*); gênero *Meloidodera*. Esse nematoide seria a forma intermediária entre o nematoide-de-cisto e o nematoide-das-galhas. Do nematoide dos cistos, *Meloidodera* apresentava retenção de ovos no corpo e, do nematoide-das-galhas, a não formação de cisto. *Meloidodera* se diferenciava dos dois gêneros principalmente pela posição equatorial da vulva e, em decorrência disso, possuía uma longa distância entre vulva e ânus.

Em meio a dúvidas e controvérsias que geravam inseguranças na taxonomia do nematoide-das-galhas, Sledge; Golden (1964) criaram um novo táxon *Hypsoperine graminis* (n. gen. e n. esp.), considerando a espessura da cutícula e a região perineal elevada. Quatro anos após, Whitehead (1968), em sua magnífica revisão temática sobre o nematoide-das-galhas, não concordou com a criação e propôs que o novo táxon fosse sinônimo de *Meloidogyne*.

O primeiro método de identificação de espécie do gênero *Meloidogyne* que surgiu após o trabalho de Chitwood (1949) foi o de J.N Sasser [SASSER, (1954)] (FIGURA 9). Esse autor relacionou reações parasitárias de plantas que

poderiam ser consideradas diferenciadoras, ou seja, hospedeiras ou não hospedeiras, com as espécies descritas por B.G. Chitwood, exceto *M. exigua*, o nematoide-do-cafeeiro. A propósito, as espécies descritas por B.G. Chitwood já eram popularmente referidas pelos pesquisadores como “as espécies principais” (*major species*) do gênero. O método de J.N. Sasser resultou de uma pesquisa desenvolvida como parte da tese de doutorado do autor do método, na *Washington University*, em *Maryland, New Jersey*, Estados Unidos, sob orientação do próprio B.G. Chitwood. Esse fato é uma indicação de que os autores buscavam alternativas para o Método Chitwood. Segundo J.N. Sasser (informação pessoal), o seu novo método, por ser muito prático, passou a ser utilizados por fitopatologistas e nematologistas, para diagnósticos rotineiros. Alguns pesquisadores, a exemplo de R. M. Moura mostrado na FIGURA 8, passaram a utilizar os os dois métodos de modo associado, ou seja, o de Chitwood (1949) com o de Sasser (1954), em estudos de populações com padrões perineais considerados variantes dentro de uma espécie (Moura, 1976). Permanecia, evidentemente, o padrão perineal como caráter diferenciador de espécie. Na prática, ficou estabelecido que populações com variações “não significativas” (?) no padrão perineal, mas com o mesmo comportamento parasitário, seriam consideradas da mesma espécie. Alguns autores, entretanto, diante de situações semelhantes, preferiam separá-las criando novas espécies, sem efetuarem os testes com as plantas diferenciadoras.

Entretanto, não tardou para que o método de J.N. Sasser passasse a ser contestado; agora, devido às variações parasitárias de populações dentro de uma mesma espécie do nematoide. Por exemplo, o pimentão (*Capsicum annum*), considerado resistente a *Meloidogyne javanica* e susceptível a *M. incognita* no sistema de J.N. Sasser, foi encontrado, em alguns casos, parasitado por *M. javanica*. A maioria das populações dessa espécie não parasita o pimentão. O mesmo foi verificado mais tarde em relação a *M. arenaria* e o amendoimzeiro (*Arachis hypogaea*), tido como resistente a esta espécie de nematoide. Essas variações foram encontradas em outras combinações nematoide-das-galhas *versus* plantas consideradas não hospedeiras. Tal fenômeno deu origem a uma nova conceituação de raças parasitárias (*host races*). Agora, eram populações de uma mesma espécie morfológica do nematoides-das-galhas com comportamentos parasitários distintos, ou diferenciados, em relação a um ou alguns hospedeiros. Sasser (1980) apresentou critérios para separação dessas populações e criou quatro raças para *M. incognita* e duas para *M. arenaria*. Hartman; Sasser (1985) reafirmaram a credibilidade desse método diagnóstico para raças, com pequenas modificações das plantas diferenciadoras.

O fato que viria comprometer ainda mais a credibilidade do Método Chitwood foi a exagerada criação de novas espécies, muitas fundamentadas

unicamente em vagas e inconsistentes variações do padrão perineal. Esse assunto já era motivo de preocupação de nematologistas e fitopatologistas desde a década de 1950. É provável que o trabalho de Taylor et al. (1955), contendo uma chave dicotômica para identificação de espécies e excelente fotos de padrões perineais, possa ter sido, também, uma tentativa de frear a proliferação de novas espécies. Em outras palavras, os autores podem ter tido a intenção de alertar os taxonomistas-nematologistas a enquadrar as descrições de suas novas espécies dentro dos “limites de tolerância” da dicotomia proposta. Caso tenha sido intenção, a publicação, que é de alta qualidade, não atingiu esse objetivo, pois o número de espécies novas continuou crescendo ao longo das décadas seguintes. Praticamente dez anos após o Trabalho de B.G. Chitwood, foi publicada a primeira revisão e organização das espécies dos nematoides-das-galhas, de autoria de M.T. Franklin, nematologista de destaque do Reino Unido (FRANKLIN, 1957). Na revisão, entretanto, nada de novo foi acrescentado como proposta taxonômica efetiva para separação de espécies. Na década seguinte, essa mesma autora descreveu duas espécies novas: *Meloidogyne artiellia* e *M. naasi* (FRANKLIN, 1961; 1965).

Nos anos de 1960, as críticas ao Método Chitwood se intensificaram. O motivo era o mesmo: o uso equivocado, resultando em criação de novas espécies. Questionava-se: como diferenciar tantos padrões perineais, na medida em que tal critério era, em princípio, subjetivo? Entre os fitopatologistas, a descrença era quase total. A maioria não acreditava na existência das espécies novas e o diálogo entre fitopatologistas e nematologistas se tornou mais difícil, especialmente quando o assunto era nematoide-das-galhas *versus* rotação-de-culturas. Com preocupação, mas sem contestação formal, muitos observavam a atuação intensa de nematologistas tidos como separatistas (*spliters*), isto é, que se interessavam mais por diferenças para separar do que por semelhanças para unir. O objetivo desses profissionais era a descrição de novas espécies, muitas vezes por simples vaidade profissional. No entanto, deve-se admitir que várias espécies descritas naquela época possuíam, realmente, padrão perineal diferenciado e mereceram individualização taxonômica específica. São exemplos de relatos brasileiros aceitos pela comunidade nematológica até os dias atuais as espécies *Meloidogyne inornata* Lordello, 1956 e *Meloidogyne coffeicola* Lordello & Zamith, 1960, (LORDELLO; ZAMITH, 1960), entre outros internacionais.

Os taxonomistas-nematologistas mais conscientes e tradicionalistas contestavam também o fato de que muitas das novas espécies descritas não possuíam a “espécie-tipo”, que deveria ser mantida pelo autor da descrição em casa de vegetação, por certo tempo. Isso, possibilitaria estudos comparativos com populações já descritas por outros autores. Devido a todos esses fatos, com o passar dos anos, o número de espécies do gênero *Meloidogyne* cresceu

exponencialmente e se tornaram necessários exaustivos trabalhos de revisão taxonômica para separar as espécies bem descritas e bem documentadas (referidas como espécies “boas”), daquelas mal descritas e pobremente documentadas (espécies “ruins”), o que era feito de acordo com os critérios do autor da revisão.

Nos anos 1960 o número de espécies do gênero *Meloidogyne* já estava próximo a 50. Em 1967, praticamente 20 anos após Chitwood (1949), Whitehead (1968) publicou a segunda revisão taxonômica do grupo. Na obra, foram consideradas válidas 23 das espécies até então descritas, tendo sido incluídas na revisão quatro espécies novas, duas novas combinações e estabelecidas diversas sinonímias. O trabalho incluiu duas chaves dicotômicas para separação de espécies; uma aplicada a fêmeas adultas e a outra para juvenis. A primeira, fundamentada no padrão perineal e em caracteres morfológicos outros, tudo em microscopia de luz. A segunda, considerou apenas larvas (*sic*) (juvenis). Nesse caso, não foi possível separar *Meloidogyne javanica* de *M. ethiopica*, havendo dicotomia, portanto, para apenas 21 espécies. De modo organizado, A.G. Whitehead apresentou as descrições das espécies, acompanhadas de documentação comprobatória, constituída por micrografias, micrometrias e fotos dos respectivos padrões perineais. A revisão foi publicada em *Transactions of the Zoological Society of London*, com o título *Taxonomy of Meloidogyne (Nematoda: Heteroderidae) with descriptions of four new species*. A obra possui 401 páginas e se tornou a mais importante publicação sobre o nematoide-das-galhas do período Pós-Chitwood. A precisão micrométrica das formas biológicas apresentadas é notável e, devido a isso, é consultada até hoje. Evidentemente, algumas poucas conclusões e conceitos apresentados por A.G. Whitehead são atualmente considerados obsoletos, devido à evolução natural da pesquisa nematológica, fato que não tira o mérito atual da publicação.

Nos anos de 1970, a meloidoginose seguiu aumentando em importância econômica na condição de problema fitossanitário. Naquela década, tomaram vulto as pesquisas de N.T. Powell (FIGURA 10) no departamento de Fitopatologia da *North Carolina State University* (NCSU), em Raleigh, NC, USA. Pesquisador e professor de raro talento, N.T. Powell consolidou as suas investigações, quase todas pioneiras, sobre o que ficou conhecido por doenças do tipo complexo, ou seja, doenças formadas pela interação de dois ou mais agentes causais (*complex diseases*). Foi constatado por meio das suas pesquisas que o nematoide-das-galhas poderia transformar o comportamento de variedades portadoras do “fator resistência” em relação a outras doenças, especialmente fúngicas e bacterianas, em susceptibilidade (FIGURA 10). Também preconizou por meio das suas pesquisas que organismos necrotóxicos (saprofíticos) da rizosfera interagem com a meloidoginose, aumentando a severidade da doença, por causarem necroses radiculares associadas.

Esser et al. (1976) publicaram *A diagnostic compendium of the genus Meloidogyne* (Nematoda: Heteroderidae) apresentando dados morfométricos e morfológicos das 35 espécies do gênero *Meloidogyne* que esses autores consideraram válidas. Em detalhes, discutiram os caracteres morfológicos que compõem a região perineal e apresentaram micrografias das espécies. No Brasil, fitonematologistas J.J. da Ponte, em Ponte (1977) (FIGURA 11), publicou um volumoso catálogo sobre espécies do nematoide-das-galhas e suas plantas hospedeiras neste país. O catálogo continha, além de extensa lista de assinalamentos, pranchas de configurações perineais e uma relação bibliográfica de significativo valor de consulta (FIGURA 11).

Os anos setenta se completaram com uma outra excelente revisão temática; a de Netscher (1978), com o título *Morphological and physiological variability of Meloidogyne in West Africa and implications for their control*. Em 46 páginas, foram discutidos, além de aspectos históricos, questões relativas à variabilidade, citologia, resistência de plantas etc. Trata-se de uma publicação de muito boa qualidade, sendo consultada por especialistas até hoje.

O Método Chitwood, mesmo recebendo críticas, permaneceu único até os anos de 1980, tendo sido de grande utilidade para a agricultura mundial e para as ciências da Fitopatologia e Fitonematologia. Com esse método, por exemplo, foi possível, como era pretendido, relacionar espécies morfológicas do nematoide com espécies botânicas hospedeiras, com relativo grau de acerto. Devido a Chitwood (1949), os programas de rotação de culturas para controle da meloidoginose passaram a ser mais racionais e efetivos. Eventualmente surgiam casos em que a rotação não era efetiva e, quase sempre, a razão estava relacionada com um diagnóstico impreciso da população de campo. O Método Chitwood proporcionou também estudos e pesquisas sobre desenvolvimento de genótipos vegetais resistentes à doença; Milton; Hammons (1975), Sasser; Kirby (1979), Mendonza; Jatala (1985), Starr (1990), Starr et al. (2002), entre muitos outros. Diante de tantos fatos positivos, não é possível deixar de reconhecer que o Método Chitwood foi um marco fundamental na evolução do conhecimento do gênero *Meloidogyne* e da meloidoginose. As espécies descritas por M.B. Chitwood em 1949 permanecem válidas até hoje, exceto as variedades. A eliminação do conceito de variedade em *Meloidogyne* spp., criado B.G. Chitwood em 1949, só ocorreu oficialmente quando Triantaphyllou; Sasser (1960) estudaram 14 progênies, cada qual oriunda de única única massa de ovos, ou grupo de juvenis, de *Meloidogyne incognita incognita*, obtidas de populações coletadas em nove estados dos Estados Unidos. Essas progênies foram multiplicadas em tomateiro por 12 gerações. Ao final, os autores constataram que as configurações perineais haviam segregado do tipo padrão para *Meloidogyne incognita* var. *incognita* à forma *M. incognita* var. *acrita*. Os autores, apresentando documentação fotográfica convincente, concluíram que essas

variações eram de ocorrência natural e não justificavam a manutenção da forma *Meloidogyne incognita* var. *acrita*. Com isso, essa variedade, ou subespécie, conforme Taylor e colaboradores em 1955, se tornou sinônimo de *Meloidogyne incognita*. Mais tarde, Esser et al. (1976) deram crédito à denominação “acrita”, criando um novo binômio *Meloidogyne acrita* (Chitwood, 1949) Esser, Perry & Taylor, 1976; uma justificada nova “boa” espécie.

Sorologia, citologia e micromorfologia para a identificação de espécies do gênero *Meloidogyne*

A década de 1960 terminou com uma publicação que trouxe novidades para a taxonomia dos nematoides-das-galhas. Foi o trabalho de Webster; Hooper (1968) no qual os autores preconizaram o emprego da sorologia-técnica bastante conhecida em bacteriologia- para comparações analíticas de populações dos fitonematoides *Ditylenchus* e *Heterodera*. Embora o trabalho não tenha envolvido o nematoide-das-galhas, o uso da sorologia despertou o interesse de diversos fitonematologistas que desenvolveram, em seguida, pesquisas envolvendo espécies do gênero *Meloidogyne* (HUSSEY, 1972a). Considerada de precisão científica adequada para taxonomia de nematoides, segundo R.S. Hussey (informação pessoal), provavelmente, a sorologia não se tornou técnica de uso rotineiro na Fitonematologia por questões de praticidade.

A.C. Triantaphyllou, nematologista e geneticista da NCSU, com o apoio de colaboradores, liderou as pesquisas citogenéticas com fitonematoides desde os anos 1960, trabalhando nos Estados Unidos. As suas metas visavam o conhecimento mais profundo da filogenia e evolução da família Heteroderidae e a separação de espécies do gênero *Meloidogyne*, conforme pode ser verificado em Triantaphyllou (1970). Após mais de dez anos de investigações, a citogenética trouxe luz ao conhecimento da genética e evolução dos nematoides-das-galhas, com destaque para a identificação das chamadas “raças citológicas” (Triantaphyllou, 1985). Esses estudos também proporcionaram uma melhor compreensão dos tipos de reprodução do nematoide-das-galhas, anfimixia (muito raro) e partenogênese; com dois tipos: mitótico e meiótico. Conquanto as técnicas utilizadas e conclusões obtidas advindas dos estudos citogenéticos não tenham se mostrado efetivas para separação de espécies do gênero *Meloidogyne*, serviriam, pelo menos, como complemento ao Método Chitwood, que ainda estava em uso. Taylor; Netscher (1974) publicaram melhoramentos nas técnicas de preparação de cortes em fêmeas adultas de *Meloidogyne* spp, para observação do padrão perineal, trazendo melhoria significativa da praticidade e da definição nas observações microscópicas, consolidando, ainda mais, o Método Chitwood.

No que concerne à micromorfologia, tudo parece ter surgido a partir de 1976, quando teve início o maior programa de pesquisas e extensão já realizado com um único fitopatógeno: o *International Meloidogyne Project*

(IMP), que tinha a “Central de Operações” localizada no Departamento de Fitopatologia da NCSU, em Raleigh, NC, EUA. O responsável pelo IMP era J.N. Sasser, já mencionado (FIGURA 12). da NCSU; uma vida dedicada ao estudo e pesquisa sobre o gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. O Projeto, que contou com suporte financeiro da *Agency for International Development* (USAID) e *United State Department of Agriculture* (USDA), teve como justificativas primordiais a importância do nematoide-das-galhas em nível mundial e sua influência negativa na produção de alimentos, em especial nos países em desenvolvimento. Entre os objetivos considerados prioritários do programa, estava à criação de um método para identificação de espécies do gênero *Meloidogyne*, com base em populações ocorrentes em diferentes países. Dois anos após o seu lançamento, em 1978, o IMP patrocinou a publicação do compêndio *Biology, Identification and Control of Root-knot Nematodes (Meloidogyne species)* (TAYLOR; SASSER, 1978) para uso como ferramenta de trabalho do Programa. Além de interessantes aspectos biológicos, ecológicos e taxonômicos, foram apresentados na obra caracteres diferenciadores das espécies de *Meloidogyne* ocorrentes nas regiões de clima frio e de clima quente. A maioria dessas informações já era conhecida e o compêndio serviu, basicamente para uniformização metodológica e conceitual dos trabalhos dos cientistas participantes do IMP, que estavam prestes a começar. Nessa publicação, foram listadas 37 espécies consideradas válidas pelos autores, entre as descritas até o dia 1 de janeiro de 1977. Cinco dessas espécies haviam sido descritas no Brasil: *Meloidogyne exigua* Göldi, 1887; *M. inornata* Lordello, 1956; *M. coffeicola* Lordello & Zamith, 1960; *M. bauruensis* Lordello, 1956 (ESSER; PERRY ;TAYLOR, 1976) e *M. lordelloi* Ponte, 1969 (PONTE, 1969).

No fim dos anos setenta, quando o IMP se aproximava da conclusão dos seus trabalhos, dois dos seus principais pesquisadores publicaram no *Journal of Nematology, da Society of Nematologists* (USA) resultados de pesquisas referentes à separação de espécies de *Meloidogyne* por meio de micrometria e micromorfologia (estruturas observadas com auxílio da microscopia eletrônica de varredura) em juvenis [EISENBACK; HIRSCHMANN (1979)], (EISENBACK, 1982). Mais tarde, estudos semelhantes foram publicados, agora envolvendo formas adultas, machos e fêmeas (HIRSCHMANN, 1985). Segundo esses dois autores, os caracteres morfológicos analisados e propostos para uso na taxonomia do grupo dos nematoides-das-galhas, quando associados, podem ser diferenciadores de espécies e não simplesmente complementares do diagnóstico, conforme indicou Chitwood (1949); lembrando que, na época de B.G. Chitwood, esses elementos foram analisados apenas com microscopia de luz. É importante ser ressaltado o desenvolvimento científico e a liderança obtida pelo IMP com os estudos efetuados e os resultados obtidos com a micromorfologia taxonômica. Inegavelmente, H. Hirschmann, trabalhando no departamento de Fitopatologia

da NCSU, foi a grande liderança. A sua prática no uso da microscopia eletrônica de varredura e as suas análises micromorfológicas interpretativas e comparativas foram, sem dúvida, extraordinárias. Por outro lado, J.D. Eisenback (FIGURA 13), aluno de doutorado da professora Hirschmann, na ocasião ainda muito jovem, tornou-se um dos destaques do IMP, com pesquisas sempre associadas a H. Hirschmann. A participação desses dois pesquisadores foi de total importância para a publicação de um manual de identificação das principais espécies do gênero *Meloidogyne* pelo IMP, que marcou época (EISENBACK ET AL., 1981). Esse mesmo autor decreveu detalhadamente as técnicas de preparação de espécimes para observações em microscopia eletrônica (Eisenback, 1985). Nessa obra, foi apresentado um sistema integrado de métodos diagnósticos para separação das principais espécies do gênero, envolvendo: macromorfologia, micromorfologia, padrão perineal, reação de plantas hospedeiras, citogenética e testes enzimáticos. O título do manual foi *A Guide to the Four Most Common Species of Root-knot Nematodes (Meloidogyne Species), With a Pictorial Key* (FIGURA 13). Os autores consideraram também publicações básicas, tais como: Eisenback et al. (1980); sobre microestruturas da região cefálica de fêmeas, estiletos e padrões perineais, Taylor; Sasser (1978); sobre reações de plantas diferenciadoras, Triantaphyllou (1970); envolvendo citogenética e Dalmasso; Bergé (1978); com a então moderna taxonomia bioquímica. As metodologias referentes às diferentes situações para preparação de espécimes para serem examinados segundo o manual, foram apresentadas com detalhes em Eisenback, (1985a,b). Esse novo sistema de identificação de espécies, portanto, fundamentou-se na integração de diversas técnicas e sistemas em uso diagnóstico. A comunidade nematológica considerou o sistema proposto pelo IMP de alta precisão taxonômica, embora complexo e limitado às quatro espécies mais comuns do gênero; curiosamente, as descritas por B.G. Chitwood, há 36 anos passados. Entretanto, devido à complexidade metodológica, exigindo operadores especializados, os altos custos dos produtos químicos necessários e dos equipamentos eletrônicos com seus periféricos, o método integrado de diagnóstico proposto pelo IMP passou a ser utilizado apenas nos laboratórios com mais recursos financeiros e praticado exclusivamente por pesquisadores especificamente treinados. No final das suas atividades, o IMP condensou e publicou os resultados obtidos, as novas metodologias, conclusões e os novos conceitos gerados ao longo dos nove anos de atividade (1976-1985), atuando em diferentes países. A condensação veio em forma de um compêndio, com dois volumes: volume 1: *An Advanced Treatise on Meloidogyne; Biology and Control*, editado por J.N. Sasser e C.C. Carter, em 1985, com 422 páginas e o volume 2: *Methodology*, editado por K.R. Barker, C.C. Carter e J.N. Sasser, 1985, com 223 páginas. No volume 1, foi mostrado que o IMP considerou como válidas 56 espécies, com algumas de autoria de pesquisadores brasileiros (HIRSCHMANN, 1985). Os dois volumes continuam sendo consultados por apresentarem informações gerais sobre o

gênero *Meloidogyne*, que são ainda de grande valor, estatísticas da época, descrições, fotos, protocolos metodológicos e farta bibliografia referente a diversos temas, quase todos de conteúdo ainda atualizado.

Na Europa, nos anos oitenta, S.B. Jepson foi o destaque entre os que mais contribuíram para o conhecimento taxonômico do nematoide-das-galhas, trabalhando no *Department of Nematology* da *Rothamsted Experimental Station*, em *Harpندن, Herts, United Kingdom* (UK). No início da década, esse autor (JEPSON, 1983a,b,c), descreveu as suas observações morfológicas feita com microscopia de luz, relativas a caudas de juvenis, estruturas cefálicas de machos e estiletos de fêmeas adultas, tudo objetivando à separação de espécies do gênero *Meloidogyne* (JEPSON, 1983a,b,c). Em 1987, reunindo toda a sua experiência profissional, publicou uma nova revisão do gênero (JEPSON, 1987), considerada, até hoje, do mais alto valor científico. O trabalho apresentado foi para a época moderno do ponto de vista taxonômico, atualizado conceitualmente, rico em informações, tudo contido em 263 páginas, divididas em seis capítulos. S.B. Jepson trouxe à mostra detalhes descritivos extraordinários e farta documentação comprobatória. A publicação foi considerada por todos como de ponta, passando a ser fonte de consulta até os dias de hoje. A dicotomia utilizada para a separação das espécies incluiu micrometria, microestruturas e padrões perineais. A autora reconheceu como válidas 49 espécies, apresentou três novas subespécies (*M. incognita incognita*, *M. incognita grahami* e *M. incognita wartellei*) e descreveu duas novas. As subespécies não foram fundamentadas exclusivamente em variações do padrão perineal, como faziam os antigos taxonomistas do grupo.

Os novos métodos e conceitos taxonômicos aplicados ao grupo dos nematoides-das-galhas, agora mais rígidos, disciplinaram as descrições de novas espécies. Um bom exemplo de uma “boa” nova espécie, descrita com todo o rigor que era cobrado na ocasião, foi *Meloidogyne sasseri* (HANDOO ET AL., 1993). O nome específico dessa espécie foi em homenagem a J.N. Sasser, uma vida dedicada aos fitonematoides, com ênfase nos nematoides-das-galhas.

Taxonomia enzimática; uma nova era na identificação de espécies do nematoide-das-galhas

Simultaneamente aos estudos morfológicos, micromorfológicos, citogenéticos e sorológicos desenvolvidos ao longo do século vinte, eram executadas pesquisas em menor volume envolvendo análises bioquímicas com objetivos taxonômicos, em muitos filós, de todos os reinos, inclusive o filo Nematoda. Era a já conhecida taxonomia-química, bioquímica ou molecular. Esses métodos viriam substituir, não integralmente, a taxonomia morfológica tradicional ou seja, aquela fundamentada em mensurações, formas e ausências ou presenças de estruturas. Com efeito, na metade do século

dezenove, pesquisadores europeus, americanos e japoneses se dedicavam com afinco aos estudos bioquímicos em alguns filós com objetivos diversos, como, por exemplo, composição química (MEYER, 1965) e evolução (GOTTLIEB, 1971). Essas pesquisas deram impulso ao surgimento de novos sistemas de identificação taxonômica, que evoluíram em todos os reinos. Desde os anos 1960, fungos, bactérias e nematoides, entre outros organismos, tanto de interesse médico, farmacológico ou fitopatológico, foram estudados bioquimicamente (LEE, 1962; LUNN, 1965; BIRD, 1966; MACKO ET AL., 1967). Naquele tempo, os pesquisadores estavam ficando convencidos de que a constituição química dos organismos e/ou seus metabólitos poderiam ter valor como elementos taxonômicos. Dentro desse contexto, no que concerne ao nematoide-das-galhas, D.W. Dickson (FIGURA 14) em seu doutorado de Fitopatologia na NCSU, juntamente com o seu orientador, J.N. Sasser, publicaram o artigo *Comparative disc-electrophoretic protein analysis of selected Meloidogyne, Ditylenchus, Heterodera and Aphelenchus spp.* (DICKSON ET AL., 1970). Essa pesquisa criou uma nova perspectiva para a taxonomia do nematoide-das-galhas que ainda necessitava de um sistema de separação de espécies mais simples e confiável (FIGURA 14). Embora dúvidas a respeito tenham sido levantadas inicialmente quanto a confiabilidade do método (ISHIBASHI, 1970), as pesquisas continuaram e os mesmos autores publicaram no ano seguinte *Dehydrogenases, acid and alkaline phosphatase, and esterases for chemotaxonomy of selected Meloidogyne, Ditylenchus, Heterodera and Aphelenchus spp.* (DICKSON ET AL., 1971). O impacto desses trabalhos foi significativo. Daí, Hussey et al. (1972b), também trabalhando na NCSU, terem publicado em complemento o trabalho *Disc electrophoretic studies of soluble proteins and enzymes of Meloidogyne incognita and M. arenaria*. O alicerce dessa nova técnica nematológica estava no trabalho *Polyacrylamide gel electrophoresis*, de Chrambach; Rodbard (1971), publicado na *Science*, um dos mais conceituados periódicos científicos do mundo. Tratava-se de um procedimento de alta resolução para separação de moléculas de proteínas, com base no tamanho e carga elétrica. Essa técnica viria a ser utilizada mais tarde como padrão na taxonomia de diferentes tipos de organismos. Naquele mesmo ano de 1971, Evans (1971) usando eletroforese em gel de poliacrilamida em um trabalho com nematoides micófagos e fitoparasitos, apresentou resultados taxonômicos muito conclusivos, o que aumentou a credibilidade do método taxonômico bioquímico. Excelente contribuição adicional à credibilidade do método foi dada, sem dúvida, por Avise (1974), ao publicar a crônica *Systematic value of electrophoretic data*, na revista *Systematic Zoology*. Os conceitos apresentados favoreceram novas definições e reafirmaram o valor do método taxonômico bioquímico. Foi a partir dessas publicações que as pesquisas se intensificaram na busca de um método bioquímico para a identificação das espécies do gênero *Meloidogyne*. A primeira publicação com densidade metodológica, conceitual e específica relativa à taxonomia-bioquímica dos nematoides-das-galhas, chegou com o

trabalho de Dalmasso; Bergé (1978) *Molecular polymorphism and phylogenetic relationship in some Meloidogyne spp.: Application to the taxonomy of Meloidogyne*. A grande inovação apresentada foi o uso do macerado de uma única fêmea adulta na análise. Os dados foram impactantes. Surgiram então discussões organizadas, mesas-redondas em congressos científicos e as primeiras revisões temáticas sobre o assunto “taxonomia bioquímica” para fitonematoides. Hussey (1979) publicou uma revisão abrangente com o título *Biochemical Systematics of Nematodes: A review*, na qual foram incluídos muitos dados de pesquisa e detalhada discussão sobre a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida, aplicada a diferentes nematoides. Eisenback et al. (1981a), conforme antes mencionado, publicaram, por meio do IMP, um manual para identificação de espécies do gênero *Meloidogyne*, com descrição individual de espécies. O sistema, constituído pela integração de métodos taxonômicos, considerou, também, os padrões isoenzimáticos em gel de poliacrilamida. Um dos autores, A.C. Triantaphyllou (FIGURA 15) na NCSU, paralelamente aos seus estudos citogenéticos, vinha desenvolvendo pesquisas em continuidade aos trabalhos de Dickson et al. (1970; 1971) e Hussey et al. (1972). Por meio do IMP, já referido, Esbenshade; Triantaphyllou (1985a,b) apresentaram os resultados e descreveram as técnicas utilizadas referentes às suas pesquisas em dois capítulos do compêndio *An Advanced Treatise on Meloidogyne*, já mencionado, com os títulos: *Identification of major Meloidogyne species employing enzyme phenotypes as differentiating characters* e *electrophoretic methods for the study of root-knot nematodes enzymes*. Esses mesmos autores publicaram em separado no *Journal of Nematology* (SON/USA) o mesmo assunto (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990). Triantaphyllou e colaboradores haviam aplicado a nova tecnologia taxonômica na identificação de 291 populações das principais espécies do gênero *Meloidogyne*, coletadas em 65 países de diferentes regiões geográficas do mundo, inclusive do Brasil. Os resultados, que foram publicados no *Journal of Nematology* (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1985c), mostraram consistência na relação entre padrões eletroforéticos com a isoenzima esterase, em gel de poliacrilamida, e as espécies morfológicas mais conhecidas. Essas relações foram de *Meloidogyne incognita* (98%), *M. javanica* (100%), *M. arenaria* (84%) e *M. hapla* (94%). Cada padrão enzimático passou a ser denominado “fenótipo de esterase”. Chamou atenção a espécie *M. arenaria*, que apresentou populações com três diferentes fenótipos de esterase, identificados por letras e números: A1, A2 e A3 (FIGURA 15). Mais tarde, esse fato seria verificado em outras espécies, que apresentaram também diferentes número de bandas eletroforéticas. Os autores também estudaram padrões obtidos com outras isoenzimas, com destaque para malato desidrogenase (MDH). Entretanto, o fenótipo de esterase passou a ser o padrão principal e o de MDH usado na diferenciação de espécies morfológicas distintas (diferentes padrões perineais), mas com fenótipos de esterase idênticos, a exemplo de *Meloidogyne naasi* e *M. exigua*. *Meloidogyne incognita*

e *M. hapla*, por exemplo, possuem padrões muito semelhantes, com uma só banda, com pequena diferença na mobilidade eletroforética: 47% para *incognita* e 49-50% para *hapla*; porém, quando verificadas para malato desidrogenase, se mostram absolutamente distintas (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990). Resultados práticos outros surgiram no fim dos anos oitenta com Fargette (1987), mostrando a aplicabilidade da nova técnica. Em 1990, fenótipos de esterase foram aplicados para comparação de populações de *Pratylenchus brachyurus* (PAYAN; DICKSON, 1990) difundindo ainda mais a aplicação da técnica entre os fitonematoides. Pesquisas sobre uso de outras técnicas bioquímicas para identificação das espécies do nematoide-das-galhas se desenvolveram paralelamente, com os mesmos objetivos. Curran et al. (1985) relataram observações em DNA para diferenciação de populações do nematoide-das-galhas, com relativo sucesso. Diante da complexidade do tema, das variações conceituais e metodológicas a *Society of Nematologists* dos Estados Unidos (SON) promoveu, em 1989, por ocasião de seu 28º Congresso Anual, em Davis, Califórnia, o simpósio *Biochemical and Molecular Methods of identifying Meloidogyne species*, com a mediação de R.S. Hussey. Verificou-se um grande sucesso nas mesas-redondas. Os mais famosos especialistas da época apresentaram palestras, que foram integralmente publicadas no *Journal of Nematology*, volume 22, do ano 1990. Pesquisas sorológicas foram também discutidas no simpósio, como visto em *Serological differentiation of plant-parasitic nematodes species with polyclonal and monoclonal antibodies* (SCHOTS ET AL., 1990). Os autores não obtiveram muito sucesso devido ao excesso de reações cruzadas do soro, mas opinaram favoravelmente à progressão das pesquisas. Aparentemente, o pioneiro no uso dessa técnica foi Lee (1965), trabalhando com nematoide parasito de humanos. Hyman (1990), em seu trabalho *Molecular diagnosis of Meloidogyne species*, tentou relacionar variações dos DNAs nuclear e mitocondrial com espécies e raças de *Meloidogyne*, objetivando desenvolver um sistema diagnóstico. O trabalho é rico em técnicas e conceitos e incluiu uma pequena revisão das informações até então disponíveis sobre pesquisas com DNA para descrição de fitonematoides. Esse trabalho fez parte de uma das mais destacadas sessões do citado Simpósio da SON. Em 1993, foi publicado um estudo tratando do uso da conhecida técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) na separação de espécies do gênero *Meloidogyne* (POWERS; HARRIS, 1993). Acreditava-se que estudos de DNA e PCR, isoladamente ou associados a outros métodos, poderiam ser de utilidade taxonômica na separação de espécies do nematoide-das-galhas. A difusão e aprimoramento das técnicas moleculares aplicadas à Nematologia se intensificaram pelo mundo, fazendo surgir novos estudos e publicações, das mais diversas, envolvendo quase todos os tipos de nematoides. A evolução metodológica da taxonomia bioquímica não faz parte do escopo desta revisão.

A partir desses estudos, espécies do nematoide-das-galhas morfologicamente distintas, segundo o sistema de Eisenback et al. (1981) mas com mesmos fenótipos de esterase e de MDH, poderiam ser consideradas de origem filogenética comum e, portanto, taxonomicamente sinonímas. Situações taxonômicas conflitantes, entretanto, continuaram a existir. Consultar um especialista nessas situações se faz sempre necessário. Eisenback et.al. (1994), diante de uma população atípica em cafeeiro encontrada no Hawaii descreveram, com muita propriedade, a nova espécie *Meloidogyne konaensis*. Diante de muitas dúvidas que tiveram para identificar a espécie em mãos, os autores fizeram consultas a especialistas. Essas dúvidas foram comunicadas e explicitamente incluídas na publicação. Em casos semelhantes, este deve ser o procedimento que os taxonomistas devem ter.

Ao fim do século vinte, R.M. Moura escreveu no Brasil uma revisão do tema “O gênero *Meloidogyne* e a Meloidoginose”, dividida em duas partes. A Parte I (MOURA,1996) e a Parte II (MOURA,1997a) disponibilizaram significativa contribuição teórica ao conhecimento do nematoide-das-galhas, em seus diversos aspectos.

O último tratado de significativa densidade informativa sobre a taxonomia dos nematoides-das-galhas quando do encerramento deste trabalho foi o de Hunt; Handoo (2009).

Uso dos testes enzimáticos na taxonomia do nematoide-das-galhas no Brasil

A aplicação das técnicas moleculares em Fitonematologia no Brasil teve início na década de 1990, quando Carneiro et al. (1996) descreveram fenótipos enzimáticos de populações brasileiras de *Meloidogyne* spp., no *Fundamental and Applied Nematology*. Foi seguido por Alonso; Alfenas (1998), vindo depois outros congêneres, de diversos autores. No fim dos anos noventa, a publicação de Tenente et al. (1999) mereceu destaque. Tratou-se de um manual metodológico intitulado “Técnicas bioquímicas e moleculares na diagnose de fitonematoides”, de grande utilidade prática e para consultas técnicas por pesquisadores e estudantes. Finalmente, Carneiro; Almeida (2001) publicaram no Brasil a descrição do método enzimático aplicado ao nematoide-das-galhas.

Considerações finais

Dificuldades metodológicas e conceituais na taxonomia do nematoide-das-galhas persistem, em particular, na conceituação de espécies. Esbenshade; Triantaphyllou (1985a) afirmaram, o que ainda é válido nos dias de hoje, *...precise and reliable identification of species is a formidable task even for well-qualified taxonomists with expertise in the genus Meloidogyne.....*

Mais tarde, justificando a complexidade do tema, Esbenshade; Triantaphyllou (1990) afirmaram que, após o estudo de 600 populações, oriundas de diferentes regiões do mundo, ficou definitivamente evidenciado que *Meloidogyne* spp. não são espécies biológicas verdadeiras, pelo contrário, representam formas predominantemente partenogenéticas, derivadas ao longo de diferentes linhas de evolução. Além do mais, essas “ditas” espécies possuem variações no tipo de reprodução, indo da anfimixia à partenogênese facultativa ou obrigatória, e com ploidias diversas, ocorrendo formas haploides a poliploides, com 14 a 74 cromossomos.

Mesmo diante das complexidades taxonômicas, excelente descrições de novas espécies continuam surgindo, agora com muito mais critérios. A descrição de *Meloidogyne morocciensis*, com deslocamento de uma forma taxonômica próxima, pode ser considerada uma descrição com competência (RAMMAH; HIRSCHMAN, 1990). Essa publicação pode servir de modelo para descrição de novas espécies do grupo, de acordo com a conceituação mais atual.

Finalmente, ao fim desta revisão, vale ser ressaltado que a despeito das novas técnicas taxonômicas e das diversas revisões taxonômicas relativas ao gênero *Meloidogyne*, efetuadas ao longo de décadas, por consagrados autores, as espécies descritas por Chitwood (1949), não foram eliminadas, exceto as “variedades”; *M. incognita* var. *incognita* e *M. incognita* var. *acrita*. As novas pesquisas apenas confirmaram as suas identidades. Curiosamente, essas espécies são as que mais ocorrem no mundo, as mais estudadas e as de maior importância econômica conforme mostraram Ponte; Castro (1975), Netscher (1978), Sasser (1980), Jepson (1987), Moura et al. (2000), entre muitos outros. Segundo Carter; Sasser (1982), após um levantamento mundial feito pelo IMP, ficou constatado que as espécies descritas por Chitwood (1949) - *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* - respondem por 95% das ocorrências do nematoide-das-galhas em solos agrícolas. Esse fato se verifica até hoje. Com isto, fica enaltecida a memória de B.G. Chitwood, um dos maiores nomes da Zoologia de Invertebrados; um gênio, muitas vezes incompreendido, invejado. A Sociedade Brasileira de Nematologia (SBN) não o esqueceu e prestou-lhe uma homenagem simples, mas significativa (MOURA,1997b).

Agradecimentos: o autor é grato aos professores Joseph Neal Sasser e Richard S. Hussey por oportunidades profissionais interativas e também por possibilitarem consultas bibliográficas em suas bibliotecas particulares. O autor também é grato aos colegas L.C.B. Ferraz e G.P. Ribeiro pelas valiosas sugestões feitas a este trabalho, após a leitura dos originais.

Bibliografia

ALONSO, S. K.; ALFENAS, A. C. Isoenzimas na taxonomia e na genética de fitonematoides. *In*: Alfenas, A. C. (Ed.) Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins, fundamentos e aplicações práticas. **UFV**, M.G., 525-543. 1998.

ATKINSON, G. F. A preliminary report upon the life history and metamorphosis of a root-gall nematode, *Heterodera radiculicola* (Greef) Müller, and the injuries caused by it upon the roots of various plants. **Sci. Contr. Agric. Exp. Sta. Alabama Polyt. Inst.**, 1: 177-226. 1889.

AVISE, J. C. Systematic value of electrophoretic data. **Systematic Zoology**, 23: 465-481. 1974.

BERKELEY, M. J. Vibrio forming cysts on the root of cucumbers. **Garderns' Chron.** (Abril 7), 14: 220. 1855.

BIRD, A. F. Esterases in the genus *Meloidogyne*. **Nematol.** 12:359-361. 1966.

BYARS, L. P. Preliminary notes on the cultivation of the plant-parasitic nematode *Heterodera radiculicola*. **Phytopath.**, 4: 323-326. 1914.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; CARNEIRO, R. G. Enzyme phenotypes of Brazilian populations of *Meloidogyne* spp. **Fund. App. Nematol.**, 19: 555-560. 1996.

CARNEIRO, R. D. M. G.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides das galhas para identificação de espécies. **Nematol. Brasil.**, 25: 35-44. 2001.

CARTER, C. C.; SASSER, J. N. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) affecting economic food crops in developing Nations. IMP, NCSU/USAID. **North Cartolina State Unversity Graphics**, 23p. 1982.

CHITWOOD, B. G. Root-knot nematodes: Part 1. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. **Proc. Helmint. Soc. Wash.**, 16: 90-104. 1949.

CHITWOOD, B. G.; SPECHT, A. W. ; HAVIS, L. Root-knot nematodes: Part 3. Effects of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* on some peach rootstocks. **Plant & Soil**, 4:77-95. 1952.

CHITWOOD, B. G.; HANNON, C. I. ; ESSER, R.P. A new nematode genus, *Meloidodera*, linking the genera *Heterodera* and *Meloidogyne*. **Phytopath.**, 46: 264-266. 1956.

CHRAMBACH, A.; RODBARD, D. Polyacrylamide gel electrophoresis. **Science**, 172: 440-451. 1971.

CHRISTIE, J. R.; ALBIN, F. R. Host-parasite relationships of the root-knot nematode, *Heterodera marioni*: 1- The question of races. **Proc. Helminth. Soc. Wash.**, 11: 31-37. 1944.

CHRISTIE, J. R.; HAVIS, L. Relative susceptibility of certain peach stocks to races of the root-knot nematode. **Plant Dis. Repr.**, 32: 510-514. 1948.

COBB, N. A. *Tylenchus* and root-gall. **Agric. Gaz. N.S.W.**, 1: 155-184. 1890.

COBB, N. A. The amphids of *Caconema* (nom. nov.) and other nemas. **J. Parasitol.**, 11:118-120. 1924.

COETZEE, V. *Meloidogyne acronea*, a new species of root-knot nematode. **Nature**, 177: 889-900. 1956.

CORNU, M. Études sur le *Phylloxera vastatrix*. **Comp. Ren. Des. Séc. de L'Acad. Des Sci.**, Paris, 26: 163-175. 1879a.

CORNU, M. Sur une maladie qui fait périr lês rubiacées dês serres chaudes (*Anguillules*). **Comp. Ren. Des. Séc. de L'Acad. Des Sci.**, Paris, 88: 668. 1879b.

CURRAN, J.; BAILLIE, D. L.; WEBSTER, J. M. Use of genomic DNA restriction fragment length differences to identify nematode species. **Parasitology**, 90:137-144. 1985.

DALMASSO, A.; BERGÉ, J. B. Molecular polymorphism and phylogenetic relationship in some *Meloidogyne* spp.: application to the taxonomy of *Meloidogyne*. **J. Nematol.**, 10:323-332. 1978.

DAY, L. H. ; TUFTS, W. P. Further notes on nematode-resistant rootstocks for deciduous fruit tree. **Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.**, 37:327-329. 1940.

DICKSON, D. W.; SASSER J. N.; HUISINGH, D. Comparative disc-electrophoretic protein analysis of selected *Meloidogyne*, *Ditylenchus*, *Heterodera*, and *Aphelenchus* spp. **J. Nematol.**, 2: 286-293. 1970.

DICKSON, D. W.; HUISINGH, D.; SASSER, J.N. Dehydrogenases, acid and alkaline phosphatases and esterases for chemotaxonomy of selected *Meloidogyne*, *Ditylenchus*, *Heterodera* and *Aphelenchus* spp. **J. Nematol.**, 3:1-16. 1971.

EISENBACK, J. D.; HIRSCHMANN, H. Morphological comparison of second-stage juveniles of several *Meloidogyne* species (root-knot nematodes) by scanning electron microscopy. **Scan. Elect. Microsc.**, 3: 223-229. 1979.

EISENBACK, J. D.; HIRSCHMANN, H.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Morphological comparison of *Meloidogyne* female head structures, perineal patterns and stylets. **J. Nematol.**, 12:300-313. 1980.

EISENBACK, J. D.; HIRSCHMANN, H.; SASSER, J. N.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. A guide to the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) with a pictorial key. IMP. **The Dept. Plant Pathology and Genetics, NCSU/ USAID**. Raleigh, NC., USA, 47p. 1981.

EISENBACK, J. D. Morphological comparison of head shape and stylet morphology of second-stage juveniles of *Meloidogyne* species. **J. Nematol.**, 14: 339-343. 1982.

EISENBACK, J. D. Diagnostic characters useful in the identification of the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). In: Sasser, J. N. ; Carter, C. C. *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Vol. 1. *Biology and Control*. IMP. **North Carolina State University Graphics**. Raleigh, NC., 95-112, 1985a.

EISENBACK, J. D. Techniques for preparing nematodes for scanning electron microscopy. In: Barker, K. R., Carter, C. C.; Sasser, J. N. *Advanced Treatise on Meloidogyne*. Vol. 2. *Methodology*. IMP. **North Carolina State University Graphics**, Raleigh, NC., 79-105, 1985b.

EISENBACK, J. D.; BERNARD, E. C.; SCHMITT, D. P. Description of the kona coffee root-knot nematode, *Meloidogyne konaensis* n. sp. **J. Nematol.**, 26:363-374. 1994.

ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species. **J. Nematol.**, 17: 6-20. 1985a.

ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Enzymes phenotypes in *Meloidogyne* identification. In: Sasser, J. N; Carter, C. C. *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Vol.1. *Biology and Control*. IMP. **North Carolina State University Graphics**. Raleigh, NC.,135-140. 1985b.

ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Eletrophoretic methods for the study of root-knot nematodes enzymes. In: Barker, K. R., Carter, C. C.; Sasser, J. N. *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Vol. 2. *Methodology*. IMP. **North Carolina State University Graphics**. Raleigh, NC., 115-123, 1985c.

ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Isoenzyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. **J. Nematol.**, 22: 10-15.1990a.

ESSER, R. P.; PERRY, V. G.; TAYLOR, A. L. A diagnostic compendium of the genus *Meloidogyne* (Nematoda: Heteroderidae). **Proc. Helm. Soc. Wash.**, 43:138-150. 1976.

- EVANS, A. A. F. Taxonomic value of gel-electrophoresis of proteins from mycophagous and plant-parasitic nematodes. **Inst. J. Biochem.**, 2:72-79. 1971.
- FARGETTE, M. Use of esterase phenotypes in the taxonomy of the genus *Meloidogyne*. II. Esterase phenotypes observed in West African populations and their characterisation. **Revue Nématol.**, 10:45-56. 1987.
- FILIPJEV, I. N. On the classification of the Tylenchinae. **Proc. Helm. Soc. Wash.** 3:80-82. 1936.
- FRANKLIN, M. T. A British root-knot nematode, *Meloidogyne artiellia* n. sp. **J. Helminth.** (Suppl.), 85-92. 1961.
- FRANKLIN, M. T. A root-knot nematode, *Meloidogyne naasi* n.sp., on field crops in England and Wales. **Nematologica**, 11:79-86. 1965.
- FRANKLIN, M. T. Review of the genus *Meloidogyne*. **Nematologica**, 2 (Suppl.): 387-397. 1957.
- GÖLDI, E. A. Relatório Sobre a Moléstia do Cafeeiro na Província do Rio de Janeiro. **Arch. Mus. Nac.**, Rio de Janeiro, 8: 7-123. 1887.
- GOODEY, T. On the nomenclature of the root-gall nematodes. **J. Helminth.**, 10: 21-28. 1932a.
- GOODEY, T. Plant Parasitic Nematodes and The Diseases They Cause. **E. P. Dutton & Company Inc., New York**, 306p. 1932b.
- GOTTLIEB, L. D. Gel electrophoresis: a new approach to the study of evolution. **Bioscience**, 21:939-944. 1971.
- GREEFF, R. Ueber Nematoden in Wurzelanschwellungen (Gallen) verschiedener Pflanzen. **Sber. Ges. Beförd. Ges. Natur. Marburg.**, 11:172-174. 1872.
- HANDOO, Z. A.; HUETTEL, R. N.; GOLDEN, A. M. Description and SEM observations of *Meloidogyne sasseri* n.sp. (Nematoda: Meloidogynidae) parasitizing beachgrasses. **J. Nematol.**, 25:628-641. 1993.
- HARTMANN, K. M.; SASSER, J. N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential hosts test and perineal-pattern morphology. In: Barker, K. R., Carter, C. C. ; Sasser, J. N. *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Vol. 2. **Methodology**. IMP. **North Carolina State University Graphics**, Raleigh, NC., 69-77. 1985.
- HIRSCHMANN, H. The genus *Meloidogyne* and morphological characters differentiating its species. In: Sasser, J. N.; Carter, C. C. *An Advanced Treatise*

on *Meloidogyne*. Vol.1. *Biology and Control*. IMP. **North Carolina State University Graphics**. Raleigh, NC., 79-93. 1985.

HUNT, D. J.; HANDOO, Z. A. Taxonomy, identification and principal species. In: Perry, R. N.; Moens, M.; Starr, J. L. (Eds). *Root-Knot Nematodes*. **CABI**, Wallingford, UK. 2009. p. 55-97.

HUSSEY, R. S. Biochemical Systematic of Nematodes - A Review. **Helm. Abstr., Series B**, 48:141-148. 1979.

HUSSEY, R. S. Serological relationships of *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria*. **J. Nematol.**, 3: 101-104. 1972.

HUSSEY, R. S.; SASSER, J. N.; HUISINGH, D. Disc electrophoretic studies of soluble protein and enzymes of *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria*. **J. Nematol.**, 4 183-189. 1972.

HYMAN, B. Molecular diagnosis of *Meloidogyne* species. **J. Nematol.**, 22: 24-30. 1990.

ISHIBASHI, N. Variations of the electrophoretic protein patterns of Heteroderidae (Nematoda: Tylenchida) depending on the developmental stages of the nematode and on the growing conditions of the host plants. **Appl. Entomol.**, 5: 23-32. 1970.

JOBERT, M. C. Sur une maladie du caféier observée au Brésil. **Comp. Ren. Des. Séc. de L'Acad. Des Sci.**, Paris, 87: 941-943. 1878.

JEPSON, S. B. Identification of *Meloidogyne*: a general assessment and a comparison of male morphology using light microscopy with a key to 24 species. **Rev. Nématol.**, 6:291-309. 1983a.

JEPSON, S. B. Identification of *Meloidogyne* species: a comparison of stylets of females. **Nematol.**, 29:132-143. 1983b.

JEPSON, S. B. The use of second-stage juvenile tails as an aid in the identification of *Meloidogyne* species. **Nematol.**, 29: 11-28. 1983c.

JEPSON, S. B. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). **CABI**, Wallingford, UK., 265p., 1987.

KOFOID, C. A.; WHITE, W. A. A new nematode infection in man. **J. Amer. Med. Assoc.**, 72: 567-569. 1919.

LAVERGNE, G. La *Anguillula* en Sud-America. **Rev. Chil. Hist. Nat.**, 5: 85-91. 1901a.

LAVERGNE, G. L'anguillule du Chili (*Anguillula vialae*). **Rev.Vitic.**, 16: 445-452. 1901b.

- LEE, D. L. The distribution of esterase enzymes in *Ascaris lumbricoides*. **Parasitology**, 52: 241-260. 1962.
- LEE, S. H. Attempts to use immunodiffusion for species identification of *Meloidogyne*. **Nematol.**, 11: 41. 1965 (Abst.)
- LICOPOLI, G. Sopra alcuni tubercoli radiculari continente anguillole. **Rev. Accad. Sci. Fiz., Napoli**, 14: 41-42. 1875.
- LOOS, C. A. *Meloidogyne brevicauda* n. sp., a cause of root-knot of mature tea in Ceylon. **Proc. Helm. Soc. Wash.**, 20:83-91. 1953.
- LORDELLO, L. G. E.; ZAMITH, A. P. L. *Meloidogyne coffeicola*, sp. n., a pest of coffee trees in the state of Paraná, Brazil. **Rev. Bras. Biol.**, 20:375-379. 1960.
- LORDELLO, L. G. E. *Meloidogyne inornata* sp. n., a serious pest of soybean in the State of São Paulo. **Rev. Bras. Biol.**, 16:65-70. 1956.
- LUNN, B. M. A comparison by the use of gel electrophoresis of soluble protein components and esterase enzymes of some group of *D. streptococci*. **J. Gen. Microbio.**, 40: 413-419. 1965.
- MACKO, V.; NOVACKY, A.; STAHMANN, M. A. Protein and enzyme patterns from urediospores of *Puccinia graminis* v. *tritici*. **Phytopath.**, 58: 122-127. 1967.
- MENDOZA, H. A.; JATALA, P. Breeding potato for resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne* species. In: Sasser, J. N ; Carter, C. C. *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Vol. 1. *Biology and Control*. IMP. **North Carolina State University Graphics**, Raleigh, NC., 217-231. 1985.
- MEYER, R. F. Amylase, cellulase, invertase and pectinase in several free-living, mycophagous and plant-parasitic nematodes. **Nematol.**, 11: 441-448. 1965.
- MILTON, N. A.; HAMMONS, R. O. Evaluation of peanut for resistance to the peanut nematode, *Meloidogyne arenaria*. **Plant Dis. Repr.**, 59: 944. 1975.
- MOURA, R. M. Identificação de espécie de *Meloidogyne* causadora de galhas em figueira, através das suas características morfológicas e reações induzidas em plantas diferenciadoras. **Sum. Phytopat.**, 2: 157-164. 1976.
- MOURA, R. M. O gênero *Meloidogyne* e a *Meloidoginose*. Parte I. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Ed. Passo Fundo, SBF., 4: 209-244. 1996.
- MOURA, R. M. O gênero *Meloidogyne* e a *Meloidoginose*. Parte II. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Ed. Passo Fundo, SBF., 5: 281-315. 1997.
- MOURA, R. M. Uma homenagem ao Dr. Benjamin Goodwin Chitwood. **Nematol. Brasileira**, 21: 31-38. 1997.

- MOURA, R. M. Relatório sobre a Moléstia do Cafeeiro na Província do Rio de Janeiro (reedição do original por E. A. Göldi, 1887). **Fadurpe/UFRPE**, Recife, PE, 121p. 1998.
- MOURA, R. M., et al. Ocorrência dos nematoides *Pratylenchus zaeae* e *Meloidogyne* spp. em cana-de-açúcar no Nordeste brasileiro. **Fitopatol. Brasil. (atual Tropical Plant Disease)**, 25: 101-103. 2000.
- MÜLLER, C. Mitteilungen über die unseren Kulturpflanzen schädlichen das Geschlecht *Heterodera* bildenden Würmer. **Landw. Jahrb.**, 13: 1-42. 1884.
- NEAL, J. C. The root-knot disease of the peach, orange and other plants in Florida, due to the work of the *Anguillula*. **U.S. Bull. Ent.**, 20: 1-31. 1889.
- NETSCHER, C. Morphological and physiological variability of species of *Meloidogyne* in West Africa and implication for their control. **Meded. Landbouwhogesch**, Wageningen, 78-83, 1978. 46p.
- PAYAN, L. A.; DICKSON, D. W. Comparison of populations of *Pratylenchus brachyurus* based on isoenzyme phenotypes. **J. Nematol.**, 22: 538-545. 1990.
- PONTE, J. J. DA. *Meloidogyne lordelloi* sp. n., a nematode parasite of *Cereus macrogonus* Salm-Dick. **Bol. Cear. Agro**. Fortaleza, CE, 10: 50-61. 1969.
- PONTE, J. J. DA. Nematóides das Galhas: Espécies ocorrentes no Brasil e seus hospedeiros. **Col. Mosso.**, ESAM (atualmente UFSA), Mossoró, 54, 1977. 100p.
- PONTE, J. J. DA.; CASTRO, F. E. Lista adicional de plantas hospedeiras de nematóide das galhas, *Meloidogyne* spp., no estado do Ceará (Brasil). **Fitos.**, 1: 29-30. 1975.
- POWERS, T. O.; HARRIS, T. S. A polymerase chain reaction method for identification of five major *Meloidogyne* species. **J. Nematol.**, 25: 1-6. 1993.
- RAMMAH, A.; HIRSCHMANN, H. *Meloidogyne morocciensis* n. sp. (Meloidogyninae), a root-knot nematode from Morocco. **J. Nematol.**, 22: 279-291. 1990.
- REYNOLDS, H. W. Relative degree of infection of American-Egyptian and upland cotton by three populations of the root-knot nematode. **Plant. Dis. Repr.**, 33: 306-309. 1949.
- SANDGROUND, J. A study on the life-history and methods of control of the root-gall *Heterodera radicularis* (Greeff) Müller in South Africa. **South. Afr. J. Sci.**, 18: 399-418. 1922.
- SANDGROUND, J. "*Oxyuris incognito*" or *Heterodera radicularis*? **J. Parasitol.**, 10: 92-94. 1924.

SASSER, J. N. Identification and host-parasite relationships of certain root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). **Univ. of Maryland Agr. Exp. Sta. Bull.**, **A-77**, 1-31. 1954.

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

SASSER, J. N.; CARTER, C. C. Overview of the International *Meloidogyne* Project 1975-1984. In: Sasser, J. N. ; Carter, C. C. *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Vol. 1. *Biology and Control*. IMP. **North Carolina State University Graphics**. Raleigh, NC., 19-24. 1985.

SASSER, J. N.; KIRBY, M. F. Crop cultivars resistant to root-knot nematodes, *Meloidogyne* species with information on seed sources. **Depart. Plant Path., NCSU/USAID**, 24p. 1979.

SCHACHT, H. Ueber einige Feinde und Krankheiten der Zuckerrübe. **Zeitschr. Ver. Rübenzucker-Ind.**, Zoolver, 9: 390. 1859.

SCHMIDT, A. Ueber den Rüben-Nematoden (*Heterodera schachtii* A.S.). **Zeitschr. Ver. Rübenzucker-Ind. Zoolver**, 21:1-19. 1871.

SCHOTS, A. et al. Serological differentiation of plant-parasitic nematode species with polyclonal and monoclonal antibodies. **J. Nematol.**, 22:16-23. 1990.

SHERBAKOFF, C. D. Recent field observations on tomato and cotton root-knot nematodes. **Plant Dis. Reprtr.** (Suppl)., 124: 146. 1940.

SLEDGE, E. B.; GOLDEN, A. M. *Hypsoperine graminis* (Nemata: Heteroderidae) a new genus and species of plant-parasitic nematode. **Proc. Helm. Soc. Wash.** 31: 83-88.1964.

STARR, J. L. Methods for evaluating plant species for resistance to plant-parasitic nematodes. **The Society of Nematologists (SON)**, Hyattsville, 87p. 1990.

STRUBELL, A. Untersuinchungen über den Bau und die Entwicklung dês Rüben-Nematoden, *Heterodera schachtii* Schmidt. **Bibliotheca Zool.**, 2:1-52. 1888.

STARR, J. L.; COOK, R.; BRIDGE, J. Plant Resistance to Parasitic Nematodes. **CABI**, Wallingford, UK. 258p. 2002.

TAYLOR, D. P.; NETSCHER, C. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. **Nematol.**, 20:268-269. 1974.

- TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). IMP. **North Carolina State University Graphics**, 111p. 1978.
- TAYLOR, A. L.; DROPKIN, V. H.; MARTIN, G. C. Perineal patterns of root-knot nematodes. **Phytopath.**, 45: 26-34. 1955.
- TENENTE, R. C. V.; LEAL-BERTIOLI, S. C. M. Técnicas bioquímicas e moleculares na diagnose de fitonematoides. Boletim de Pesquisa nº 6. **Embrapa-Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília**, 37p. 1999.
- TRANTAPHYLLOU, A. C. Cytogenetic aspects of evolution of the family Heteroderidae. **J. Nematol.**, 2: 26-32. 1970.
- TRANTAPHYLLOU, A. C. Cytogenetics, cytotaxonomy and phylogeny of root-knot nematodes. In: Sasser, J. N; Carter, C. C. *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Vol.1. Biology and Control. IMP, **North Carolina State University Graphics**. Raleigh, NC., 113-126. 1985.
- TRANTAPHYLLOU, A. C. Polyploidy and reproductive patterns in the root-knot nematode *Meloidogyne hapla*. **J. Morphology**, 118: 403-441. 1966.
- TRANTAPHYLLOU, A. C.; SASSER, J. N. Variation in perineal patterns and host specificity of *Meloidogyne incognita*. **Phytopath.**, 50:724-735. 1960.
- TREUB, M. Onderzoekingen over sereh-zik suikkerriet. **Meded. Uit's Plantentuin**, Java, 2: 1-39.1885.
- TYLER, J. Reproduction without males in aseptic root cultures of the root-knot nematode. **Hilgardia**, 10: 373-388. 1933.
- WEBSTER, J. M.; HOOPER, D. J. Serological and morphological studies on the inter and intraspecific differences of plant-parasitic nematodes *Heterodera* and *Ditylenchus*. **Parasitol.**, 58: 879-891. 1968.
- WHITEHEAD, A. G. Taxonomy of *Meloidogyne* (Nematoda: Heteroderidae) with descriptions of four new species. **Trans. Zool. Soc. London**, 31: 263-401.1968.

GALERIA DE FIGURAS



Figura 1. Sintomas da meloidoginose ou doença-das-galhas: (a)= raiz tuberosa de cenoura, (b)= túberas comerciais de cará e de inhame, (c)= raízes de tomateiro. (Fotos/crédito: R.M. Moura).

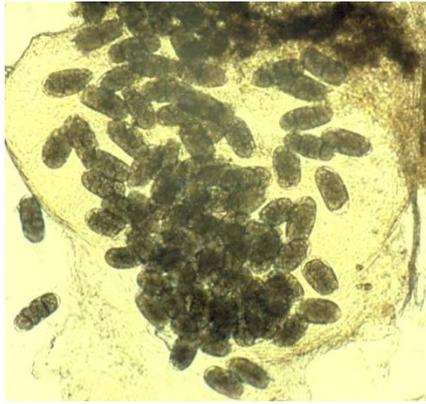


Figura 2. Formas morfológicas de *Meloidogyne* sp. De cima para baixo: (a)= massa de ovos e região anterior de um juvenil J2. (b)= macho vermiforme adulto ainda dentro da cutícula de J4 e à direita a sua região anterior. Última linha: (c)= juvenis em desenvolvimento pós-infecção dentro de raiz e uma fêmea adulta. (Fotos/crédito: R.M. Moura)

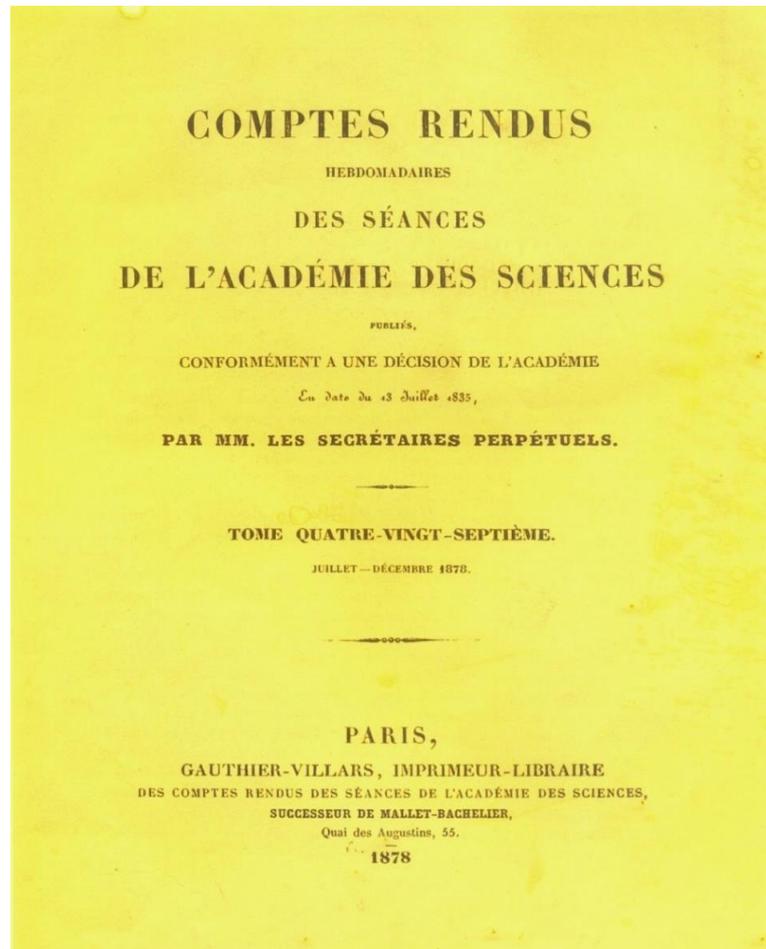


Figura 3. Publicação da Academia de Ciências da França, ano 1878 onde, nas páginas 941 a 946, encontra-se o trabalho de M.C. Jobert (1878) sobre o assinalamento da meloidoginose do cafeeiro no Brasil. Foi o primeiro relato de uma fitonematose no Brasil. (Foto/crédito: R.M. Moura)

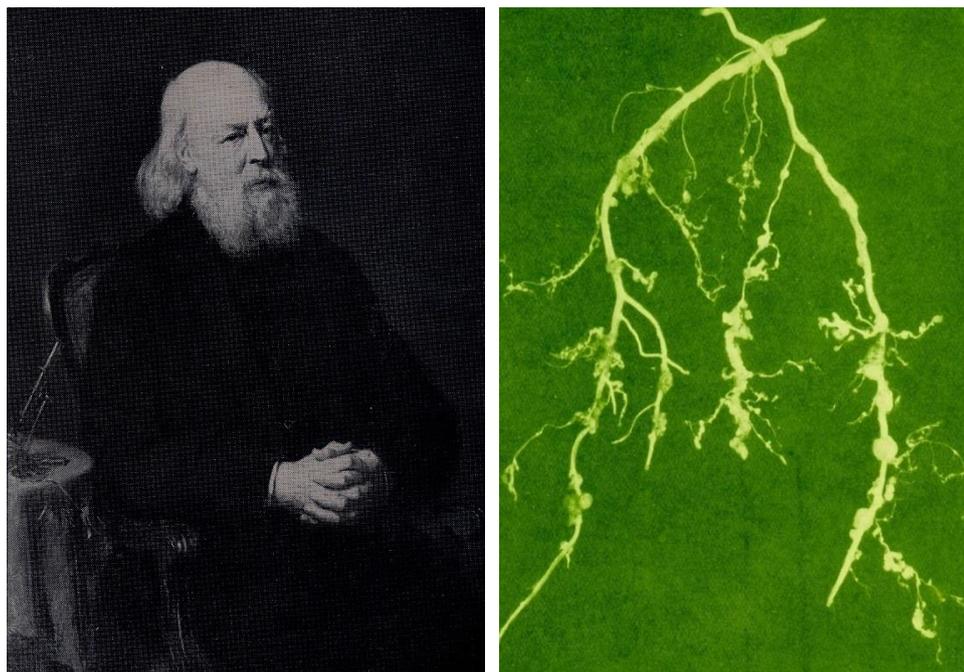


Figura 4. À esquerda, (a)= reverendo J.M. Berkeley, o primeiro cientista a relatar uma ocorrência do nematoide-das-galhas em um periódico de larga circulação. À direita (b)= sintomas da meloidoginose (*root-knot disease*) em raízes de pepino, conforme Berkeley (1885). Fotos/crédito: esquerda: *British Mycological Society & American Phytopathological Society* e (b): T. Goodey.

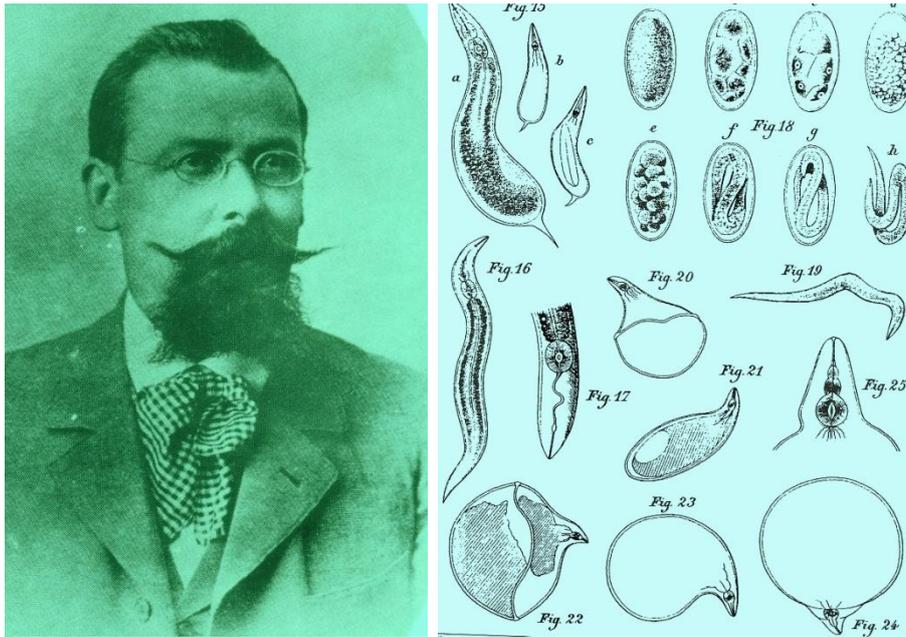


Figura 5. À esquerda, (a)= E.A. Göldi, pesquisador e biólogo naturalista. Criador do termo *Meloidogyne* e autor da primeira criteriosa descrição do nematoide-das-galhas e da meloidoginose, trabalhando no Brasil, em 1887. Ao lado (b)= detalhada micrografia das diferentes formas do desenvolvimento do nematoide. (Fotos/crédito: Museu Göldi e E.A. Göldi, respectivamente).

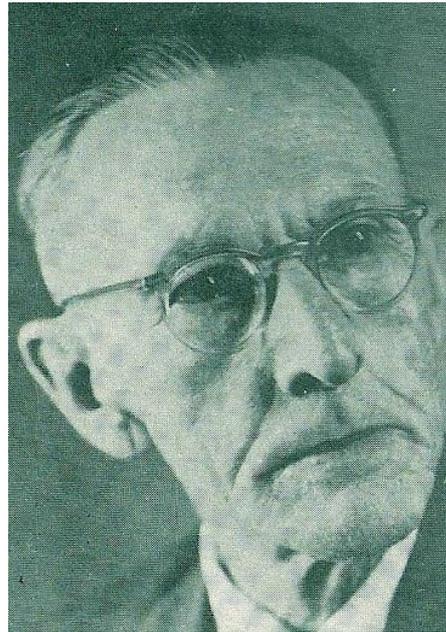


Figura 6. J. R. Christie um dos mais notáveis nematologistas do século vinte. Trabalhou na Florida, Estados Unidos. Pode ser considerado o pioneiro do descobrimento de populações diferenciadas em hábito parasitário da então espécie *Heterodera marioni*, ensejando a descoberta e as descrições das espécies morfológicas do gênero *Meloidogyne* por B.G. Chitwood, em 1949. (Foto/crédito: SON)

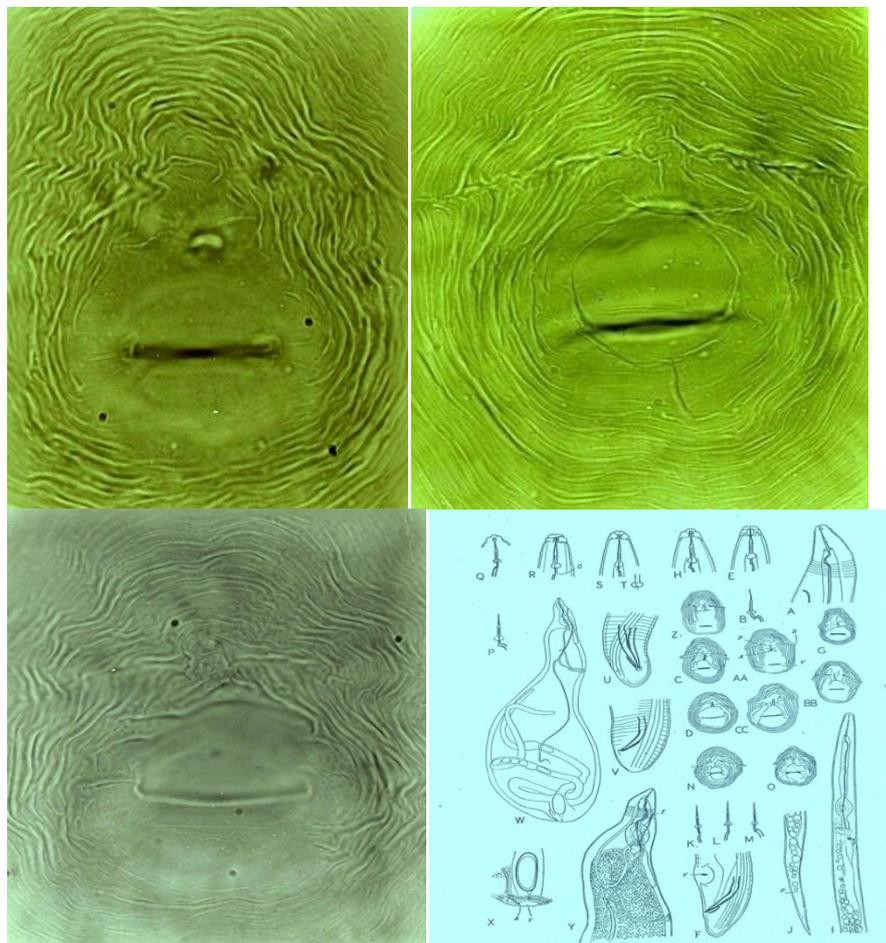
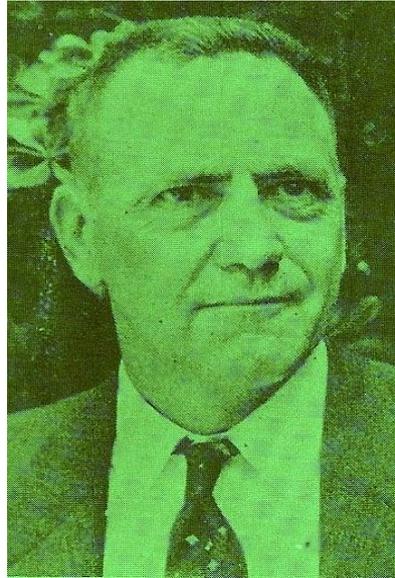


Figura 7. Acima, (a)= B.G. Chitwood, o descobridor do padrão perineal como elemento diferenciador de espécies do gênero *Meloidogyne*. Em sequência, (b) padrões perineais das espécies *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. Terceira linha, (c)= padrão perineal de *M. arenaria* e micrografia original da descrição dessa espécie. (Fotos/crédito: SON; IMP e B.G. Chitwood, respectivamente).

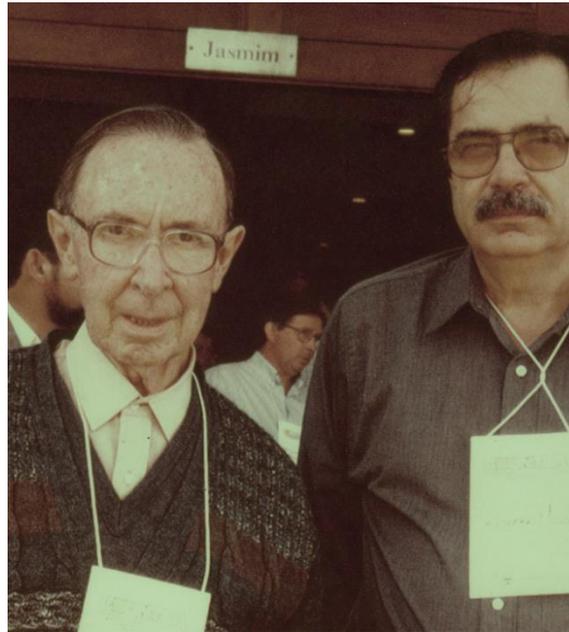


Figura 8. L.G.E. Lordello (a) e R. M. Moura (b), o seu primeiro aluno de pós-graduação, foto tirada nos anos noveta. Juntos estudaram, pela primeira vez, a utilização dos métodos de Chitwood (1949) e Sasser (1954), de modo associado, na identificação de uma população de *Meloidogyne incognita* aparentemente atípica quanto ao padrão perineal da espécie. (Foto/crédito: R. M. Moura).

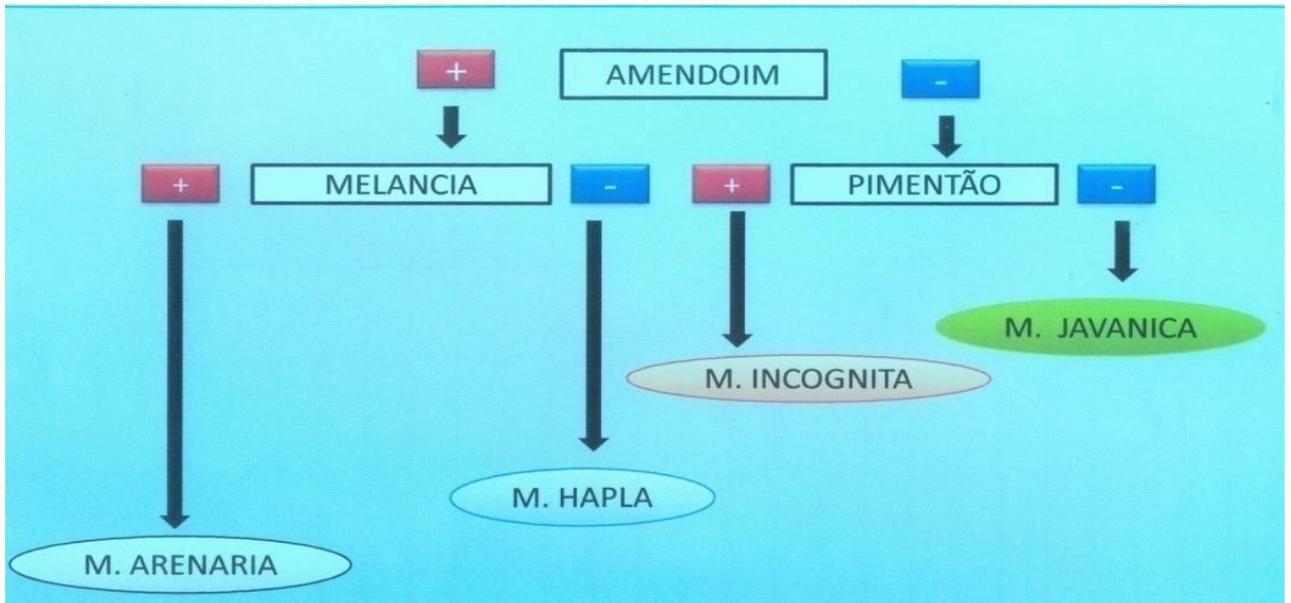


Figura 9. Sistema (simplificado) de identificação das principais espécies da do gênero *Meloidogyne*, por meio de reações de plantas diferenciadoras, segundo J. N. Sasser (1954). Legendas = (+) parasitada e (-) não parasitada. A descoberta de raças parasitárias, mais tarde, descredenciou este sistema. (Original/crédito: J. N. Sasser; adaptação de R. M. Moura).



Figura 10. N.T. Powell (a), estudioso da susceptibilidade de variedades resistentes a doenças fúngicas, quando parasitadas por *Meloidogyne* spp. Abaixo: plantas saudáveis de fumo, inoculadas apenas com o fungo *Phytophthora parasitica* f.sp. *nicotianae* e plantas mortas, cultivadas nas mesmas condições, porém inoculadas simultaneamente com o fungo e *Meloidogyne incognita*, originando síndrome do tipo complexo (*complex disease*) (b). (Fotos/crédito: acima: NCSU; abaixo: original de N.T. Powell).



Figura 11. (a) Volumoso compêndio sobre assinalamentos da meloidoginose no Brasil, publicado em 1975, com apresentação de algumas novas espécies. Em (b) configuração da região perineal de *Meloidogyne lordeloi* Ponte n.sp. (Fotos/crédito: R. M. Moura).

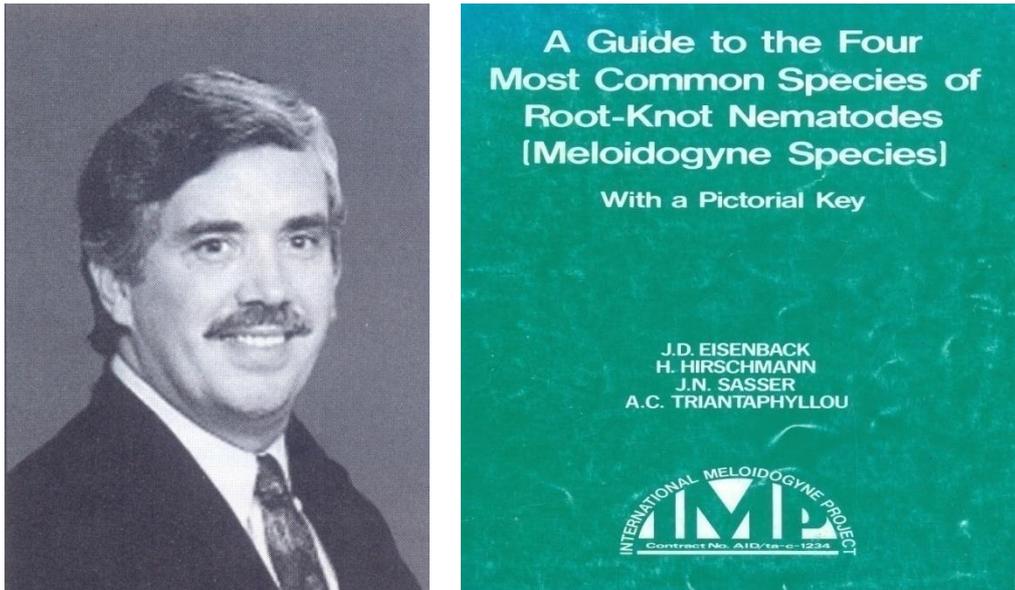


Figura 12. J. D. Eisenback (a) um dos principais investigadores do *International Meloidogyne Project* (IMP), (1976-1985). À direita (b), o sistema diagnóstico publicado pelo IMP referente à separação de quatro espécies do gênero *Meloidogyne*, com J.D. Eisenback como primeiro autor. (Fotos/crédito: SON e R. M. Moura, respectivamente).

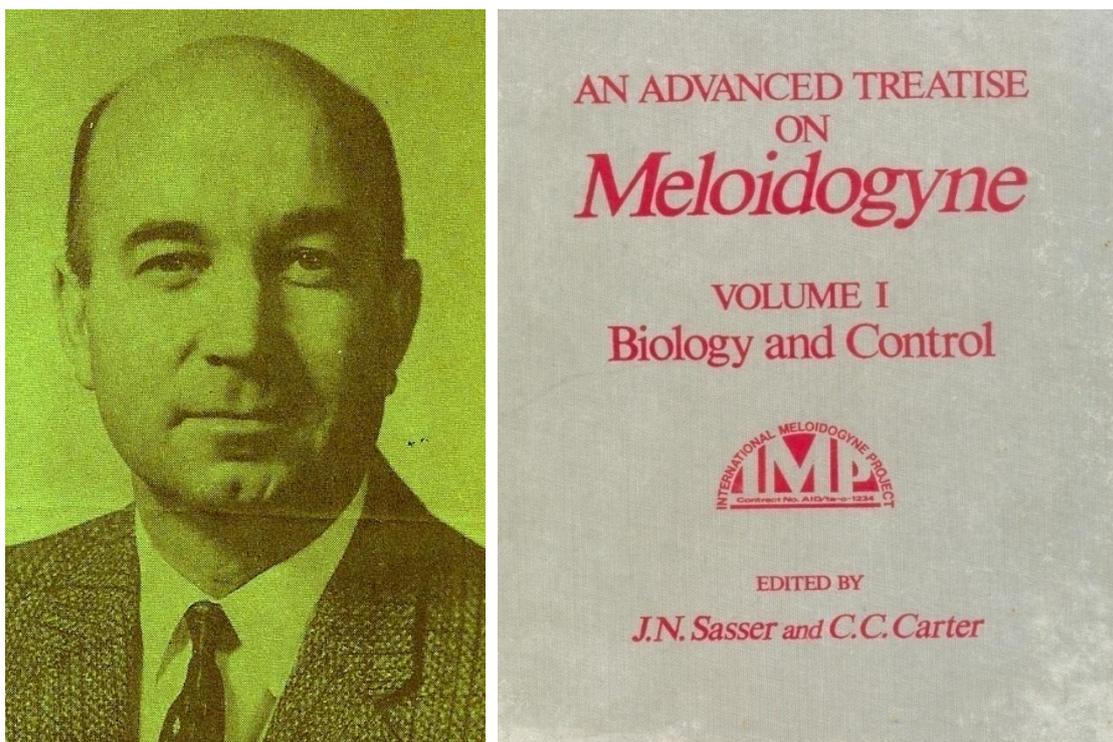


Figura 13. J. N. Sasser (a), um dos mais importantes estudiosos do nematoide-das-galhas, o criador, executor e principal responsável pelo *International Meloidogyne Project* (IMP). À esquerda, o volume 1 (b) do conjunto de dois, do compêndio resultante dos trabalhos do IMP. (Fotos/crédito: SON e R. M. Moura, respectivamente).

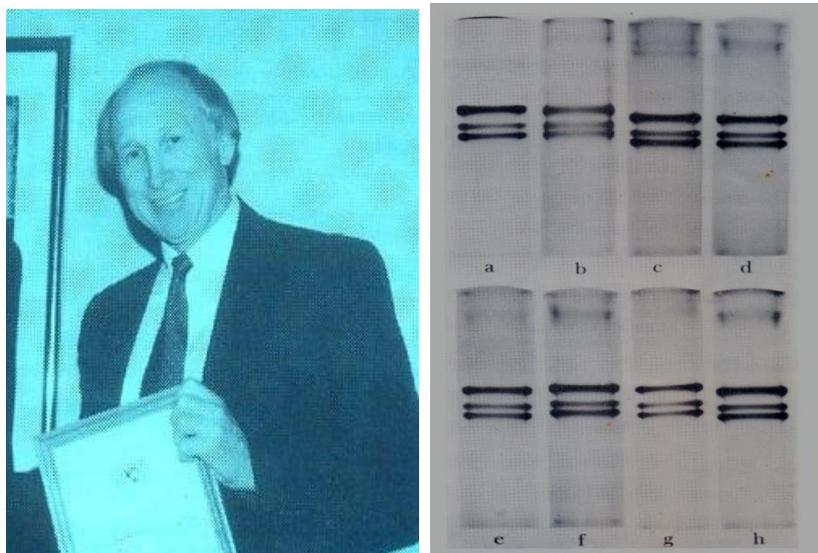


FIGURA 14. D.W. Dickson (a) precursor do uso de técnicas moleculares para separação de espécies do gênero *Meloidogyne*. Em sua primeira publicação sobre o tópico, visto à direita, o autor mostrou as três bandas típicas, obtidas de modo constante, analisando homogenatos de indivíduos isolados (uma única fêmea) e de misturas de homogenatos (muitas fêmeas) de espécimes retirados de populações de *Meloidogyne javanica*. (Fotos/crédito: SON e D. W.Dickson, respectivamente).

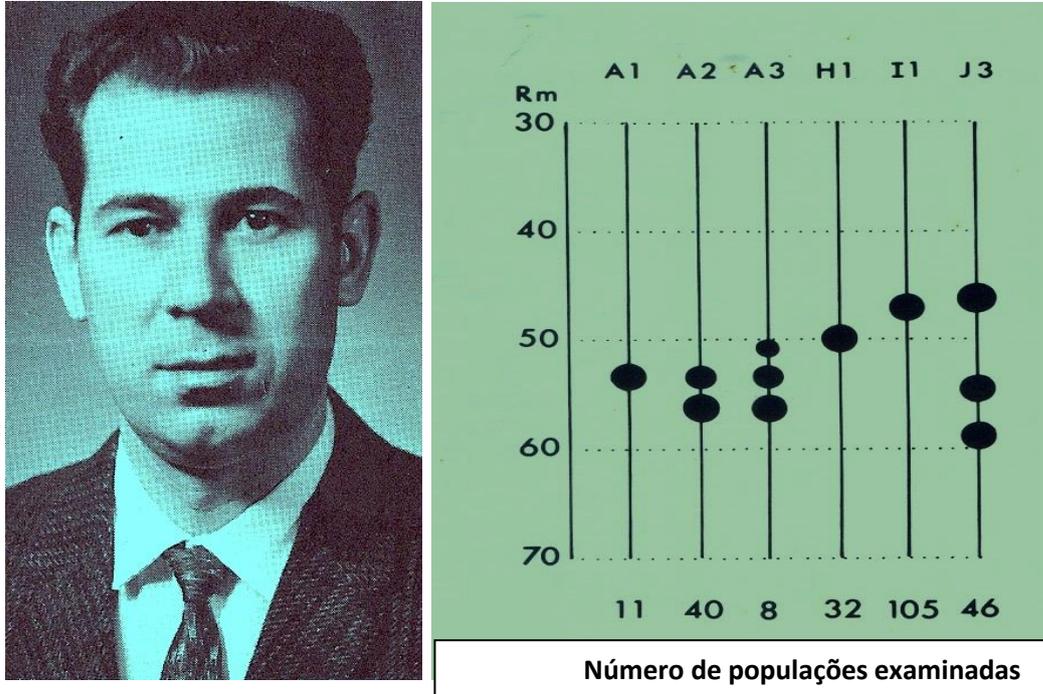


Figura 15. A.C. Triantaphyllou (a), em 1985, após estudo de 242 populações, coletadas em diferentes países, lançou, por meio do *International Meloidogyne Project*, as bases definitivas para o uso rotineiro da taxonomia enzimática dos nematoides das galhas. Legendas: A1; A2; A3= *Meloidogyne arenaria*; H= *M. hapla*; I= *M. incognita* e J= *M. javanica*. Ficou evidente que *M. arenaria* possuía populações com três diferentes fenótipos de esterase (b).

