



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Fitopatologia
Programa de Pós-graduação em Fitopatologia

**ESPÉCIES DE *Meloidogyne* EM HORTALIÇAS E OUTRAS
CULTURAS PROVENIENTES DE ÁREAS PERIURBANAS DA
ÁFRICA SUBSAARIANA**

Aldemiro Sousa Jorge Junior

Brasília, DF
2016

Aldemiro Sousa Jorge Júnior

**ESPÉCIES DE *Meloidogyne* EM HORTALIÇAS E OUTRAS CULTURAS
PROVENIENTES DE ÁREAS PERIURBANAS DA ÁFRICA SUBSAARIANA**

Dissertação apresentada à
Universidade de Brasília como
requisito parcial para a
obtenção do título de Mestre
em Fitopatologia pelo
Programa de Pós Graduação
em Fitopatologia

Orientador

Prof. Juvenil Enrique Cares

Co-orientador

Dr^a Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro

**BRASÍLIA
DISTRITO FEDERAL – BRASIL**

2016

Ficha Catalográfica

Jorge Júnior, Aldemiro Sousa. Espécies de *Meloidogyne* em hortaliças e outras culturas provenientes de áreas periurbanas da África subsaariana/ Aldemiro Sousa Jorge Júnior
Brasília, 2016

Número de páginas p.: 93

Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília.

I. *Meloidogyne* na África

II. Universidade de Brasília PPG/FIT

III. Espécies de *Meloidogyne* em hortaliças e outras culturas provenientes de áreas periurbanas da África subsaariana

“Tu não és um país, África, Tu és uma
ideia, Conformada em nossos espíritos,
cada qual com o seu, Para esconder
nossos medos, cada qual com os seus,
Para alimentar nossos sonhos, cada qual
com os seus”.

O poeta e diplomata de Serra Leoa,
Davidson Abioseh Nicol.

Dedico aos meus pais Aldemiro
Sousa Jorge e Maria Domingas de
Melo Jorge exemplos de vida.

AGRADECIMENTOS

Ao “povo brasileiro”.

À pesquisadora Dr. Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro, pessoa impar, não apenas pelo incondicional apoio em todas as etapas deste estudo, mas principalmente pelo enriquecimento pessoal.

A Universidade de Brasília, UnB, Campus Darcy Ribeiro onde cursei o mestrado, pela grande oportunidade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

Ao Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA) pelo envio das populações de *Meloidogyne*.

Ao “Initiative Africa-Brazil Agricultural Innovation Marketplace”, pelo financiamento do projeto.

Aos Doutores Juvenil Enrique Cares e Regina Maria Gomes Dechechi Carneiro, pela orientação.

Aos Doutores Juvenil Enrique Cares e Cleber Furlanetto, grandes nematologistas, docentes de quilates, pela formação em Nematologia.

A Sr^a Maria Ritta A. Almeida pelo apoio em todos os processos bioquímicos, pelos bons conselhos e grande companhia.

As companheiras do Laboratório de Nematologia: Vanessa Mattos, Joelma Gardênia, Jessica Monteiro, Edriana Araújo e Marcilene Fernandez pela inestimável convivência, risos e conversas agradáveis.

Aos colegas de curso Camilla Moraes, Tadeu Alves e Sergio Miguel pelo apoio e amizade.

Ao Dr. Coyne e equipe do Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA), pela coleta e envio das populações de *Meloidogyne*.

Aos professores e funcionários da Universidade de Brasília e aos demais funcionários da Embrapa Cenargen.

A Biblioteca do Cenargen, por todos os serviços prestados.

A todos que contribuíram diretamente ou indiretamente para realização desta obra.

Trabalho realizado junto ao Programa de Pós-graduação em Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação do Professor Juvenil Enrique Cares com co-orientação da Dr^a Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro, com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Centro de Recursos Genéticos e Biotecnologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa, Cenargen), Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA) e financiado pela “International Initiative Africa-Brazil Agricultural Innovation Marketplace”.

Espécies de *Meloidogyne* em hortaliças e outras culturas provenientes de áreas periurbanas da África subsaariana

ALDEMIRO SOUSA JORGE JÚNIOR

DISERTAÇÃO APROVADA em 26/04/2016 por:

Prof. Juvenil Enrique Cares – Orientador/Presidente

Prof. Cleber Furlanetto - Examinador interno

Dr. Jadir Borges Pinheiro - Examinador externo

BRASÍLIA – DISTRITO FEDERAL

BRASIL

2016

SUMÁRIO

SUMÁRIO	I
RESUMO GERAL	II
GENERAL ABSTRACT	III
INTRODUÇÃO GERAL.....	4
1. REVISÃO DE LITERATURA	7
1.1. África Subsaariana.....	7
1.2. Agricultura em áreas periurbanas	8
1.3. Agricultura e nematoides em cultivos de importância econômica para a África ..	11
1.3.1. Cereais	12
1.3.2. Banana	13
1.3.3. Leguminosas	14
1.3.4. Raízes e tubérculos	15
1.3.4.1. Mandioca e inhame.....	15
1.3.4.2. Batata	16
1.3.4.3. Batata doce	16
1.3.5. Culturas de rendimento.....	17
1.3.5.1. Café.....	17
1.3.5.2. Algodão	17
1.3.5.3. Cana de açúcar.....	18
1.3.5.4. Fumo.....	18
1.3.5.5. Plantas ornamentais	18
1.3.5.6. Horticultura.....	19
1.4. Ocorrência de <i>Meloidogyne</i> spp. no continente africano	21
1.5. Gênero <i>Meloidogyne</i>	22
1.5.1. Classificação do gênero <i>Meloidogyne</i>	22
1.5.2. Ciclo de vida.....	22
1.5.3. Identificação de <i>Meloidogyne</i> spp.	23
1.5.4. Identificação morfológica e morfométrica	25
1.5.5. Identificação bioquímica	27
1.5.6. Identificação molecular	29
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
2.1. Populações de <i>Meloidogyne</i> spp.....	30
2.2. Identificação das espécies de <i>Meloidogyne</i> por eletroforese de isoenzimas	33
2.3. Extração de ovos para análises moleculares	33
2.4. Extração de DNA para análises moleculares.....	34
2.5. Identificação de espécies por marcadores moleculares tipo SCAR.....	35
2.6. Análise dos dados	36
3. RESULTADOS	37
3.1. Identificação de espécies a partir de eletroforese de isoenzimas.....	37
3.2. Identificação de espécies de <i>Meloidogyne</i> por marcadores moleculares SCAR ..	47
4. DISCUSSÃO	50
5. CONCLUSÕES	60
7. ANEXO.....	79

RESUMO GERAL

JORGE JUNIOR, Aldemiro Sousa. **Espécies de *Meloidogyne* em hortaliças e outras culturas provenientes de áreas periurbanas da África subsaariana.** 2016. p: 93. Dissertação de Mestrado – Universidade de Brasília, Brasília, DF.

A urbanização tem contribuído para aumentar nos países em desenvolvimento, desta maneira, os sistemas periurbanos de produção de hortaliças se tornaram mais frequentes na África, levando a um aumento da ocorrência dos nematoides das galhas (NG), com mais danos e perdas. A limitada capacidade de identificar com precisão esses patógenos resulta na não utilização de medidas adequadas de controle, como resistência genética e rotação de culturas, levando à utilização de princípios químicos altamente tóxicos. Considerando a importância do NG na África, um estudo de identificação de populações, coletadas em hortaliças foi realizado nas culturas de tomate, berinjela, pimentão verde, mandioca, pimenta, quiabo, cenoura, repolho e amaranto, provenientes da Tanzânia, Uganda, Benin, Nigéria e Quênia. Cento e quarenta e duas populações de *Meloidogyne* spp. foram caracterizadas, bioquimicamente, usando os fenótipos de esterase (EST). Foram identificados nesses países: *M. javanica* (Est J3, Rm: 1,0, 1,25, 1,4; Est J2a, Rm: 1,0, 1,4; Est J2b, Rm: 1,0, 1,25), *M. incognita* (Est I2, Rm: 1,0, 1,1), *M. arenaria* (Est A2, Rm: 1,2, 1,3), *M. enterolobii* (Est E2, Rm: 0,75, 0,95), *M. izalcoensis* (Est I4 Rm: 0,86, 0,96, 1,24, 1,30) e duas populações atípicas, uma identificada com *M. incognita* e outra como *Meloidogyne* sp., com a predominância das três primeiras. Várias populações mistas foram detectadas em diferentes combinações. A maioria das espécies teve sua identificação confirmada pelos marcadores SCAR.

Palavras-chave: África Subsaariana, Região periurbana, Horticultura, *Meloidogyne* spp., Eletroforese.

Orientador: Juvenil Enrique Cares

Co-orientador – Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro

GENERAL ABSTRACT

JORGE JUNIOR, Aldemiro Sousa. *Meloidogyne* species on vegetables and other crops from periurban areas of Sub-Saharan Africa. 2016. p: 93. MS Dissertation in Plant Pathology – Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brazil.

Urbanization in developing countries has contributed to increase the production of vegetables in periurban areas, which have become more frequent in Africa, leading to an increase on root-knot nematodes (RKN) infestation, resulting in more damages and crop losses. Limited ability to accurately identify these pathogens, results in failure to use appropriate control measures, such as genetic resistance and crop rotation, leading to the use of highly toxic chemicals. Considering the importance of RKN in Africa, a study of species identification was carried out on nematode populations collected in fields of tomato, eggplant, green pepper, cassava, pepper, okra, carrots, cabbage and amaranth in Tanzania, Uganda, Benin, Nigéria and Kenya. one hundred forty-two populations of *Meloidogyne* spp. were characterized, biochemically, using phenotypes of esterase (EST). Five species have been identified in these countries: *M. javanica* (EST J3, Rm: 1.0, 1.25, 1.4, J 2a EST., Rm: 1.0, 1.4; EST J2b, Rm: 1.0, 1.25), *M. incognita* (EST I2, Rm: 1.0, 1.1), *M. arenaria* (EST A2, Rm: 1.2, 1.3), *M. enterolobii* (EST E2, Rm: 0.75, 0.95), *M. izalcoensis* (EST I4 Rm: 0.86, 0.96, 1.24, 1.30) and two atypical populations, one identified as *M. incognita* and another as *Meloidogyne* sp., with predominance of the first three first species. Various mixed populations were detected in different combinations. Several species had their identification confirmed by SCAR markers.

Keywords: Sub-Saharan Africa, periurban region, Horticulture, *Meloidogyne* spp., electrophoresis

Guidance Committee: Juvenil Enrique Cares – UnB (Advisor)

Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro – EMBRAPA Cenargen (Co-Advisor)

INTRODUÇÃO GERAL

Em 2050, a população da África poderá exceder dois bilhões de habitantes. De acordo com as mais recentes projeções das Nações Unidas, entre 2010 e 2030 o número de africanos que vivem em vilas e cidades vai aumentar em aproximadamente 345 milhões. Na África subsaariana, o crescimento será ainda mais acentuado: a população urbana está projetada para praticamente dobrar, de 298 para 595 milhões (FAO, 2012).

A África terá de aumentar a produção de alimentos mais de 50% nos próximos 50 anos com objetivo de atender as necessidades nutricionais de sua população em crescimento. Em nenhum lugar do mundo a necessidade de aumentar a produtividade agrícola é mais pertinente do que na maior parte da África Subsaariana, onde, atualmente é estática ou em declínio. Nesse cenário o manejo de pragas será essencial, porque a intensificação de qualquer sistema de produção cria pressões de seleção e o agravamento das pragas. Como patógenos de solo, os nematoides são comumente ignorados ou mal diagnosticados (Talwana, 2015).

Com a urbanização na África Subsaariana em desenvolvimento crescente, áreas periurbanas tornam-se intensamente cultivadas e cada vez mais atacadas por pragas e patógenos. Diante disso, os pesquisadores necessitam equilibrar a necessidade de proteger o meio ambiente e igualmente aumentar a produtividade agrícola. Estes cultivos intensos em pequenas áreas aumentam os problemas por fitopatógenos (James *et al.*, 2010), uma das principais causas de perdas e de baixa produtividade das culturas. Nesse contexto, se destacam os nematoides do gênero *Meloidogyne*, que isoladamente ou em combinação com outros agentes patogênicos, constituem uma restrição importante para a produção de hortaliças na África e no mundo.

Espécies de *Meloidogyne* representam uma ameaça significativa para a produção agrícola na África devido aos prejuízos que eles causam em uma ampla gama de culturas agrícolas, principalmente em cultivos de hortaliças. O dano direto e indireto causado por nematoides de várias espécies de *Meloidogyne* resulta em redução do rendimento, qualidade, altos custos de produção e perda de renda. Além disso, o uso de nematicidas coloca em risco a segurança alimentar da população. Como medidas de controle para essas regiões as rotações com hortaliças não hospedeiras ou utilização de cultivares resistentes são as mais adequadas. Para isso, um conhecimento preciso das espécies presentes é essencial, pois viabiliza sistemas de rotação de culturas para cada área, como também o uso de cultivares resistentes, quando for o caso.

Atualmente existem mais de 100 espécies descritas para o gênero *Meloidogyne*, das quais 22 já foram relatadas na África (Moens *et al.*, 2009; Okendi *et al.*, 2014). A caracterização e identificação dessas espécies são feitas, sobretudo por métodos morfológicos, utilizando fêmeas, machos, e juvenis de segundo estágio. Na prática, a identificação de espécies de *Meloidogyne* é feita a partir da região perineal da fêmea ao microscópio ótico. Entretanto, a identificação precisa e confiável de espécies de *Meloidogyne* a partir de caracteres morfológicos é um trabalho árduo, mesmo para nematologistas especializados no gênero (Esbenshade & Triantaphyllou, 1990).

A capacidade limitada para identificar com precisão espécies de *Meloidogyne* resulta no uso indiscriminado de insumos químicos altamente tóxicos (Sikora & Fernandez, 2005), incluindo pesticidas indicados para culturas não alimentares. Na Tanzânia, os sintomas de intoxicação relacionados com o mau uso de pesticidas foram relatados em 68% dos agricultores (Ngowi *et al.*, 2007). Estratégias de manejo de nematoides adequadas e seguras são necessárias para permitir que sistemas de agricultura periurbanos possam fornecer produtos nutritivos, seguros e de forma sustentável. Para isso, o conhecimento preciso das espécies de *Meloidogyne* encontradas nos diferentes países é de fundamental importância.

O uso de proteínas solúveis para identificação de *Meloidogyne* spp. tem sido amplamente estudado por nematologistas, e tem demonstrado que várias espécies de *Meloidogyne* podem ser diferenciadas a nível específico por meio de fenótipos enzimáticos, que são obtidos em géis de poliacrilamida (Carneiro *et al.*, 2000). Estudos sobre fenótipos de enzimas para identificação de *Meloidogyne* foram descritos pela primeira vez por Dickson *et al.* (1971), seguido por Hussey *et al.* (1972), com base nos padrões das enzimas esterase, malato-desidrogenase e α -glicerofosfato desidrogenase. Posteriormente, Dalmaso & Bergé (1978) identificaram *Meloidogyne* spp. a partir da extração de proteínas de fêmeas individuais e por separação das mesmas em corrida eletroforética com gel ultrafino.

As isoenzimas do tipo esterase (EST) são as mais utilizadas na identificação de espécies de *Meloidogyne*, com mais de 40 fenótipos descritos (Blok & Powers, 2009). Outras enzimas como malato-desidrogenase (MDH), superóxido dismutase (SOD) e glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) são com frequência incluídas em estudos para confirmação de espécies previamente identificadas (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985).

Além da bioquímica, a biologia molecular também tem mostrado eficiente na separação de espécies de *Meloidogyne*. As primeiras técnicas de biologia molecular aplicadas a nematoides fitopatogênicos envolveram a análise do polimorfismo de fragmentos obtidos pela digestão do DNA total com enzimas de restrição (RFLPs – Restriction Fragment Length

Polymorphism) (Curran *et al.*, 1985). Com o surgimento da PCR pode-se obter uma melhor discriminação intraespecífica do DNA e outros métodos de diagnósticos foram propostos (Powers e Harris, 1993; Petersen *et al.*, 1997).

A técnica RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) é baseada na técnica de PCR, e é utilizada atualmente para os estudos genéticos e para a diferenciação de espécies de *Meloidogyne*, a partir de perfis de bandas geradas com o auxílio de primer's randômicos (Cenis, 1993; Castagnone-Sereno *et al.*, 1994; Blok *et al.*, 1997; Randig *et al.*, 2002). Uma abordagem mais prática é a conversão dos marcadores RAPD em SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions), termo criado por Paran & Michelmore (1993), para definir marcadores RAPD, cuja sequência interna tenha sido determinada, permitindo compor primers mais longos, ricos em guanina e citosina. Para *Meloidogyne* spp. já foram desenvolvidos marcadores moleculares tipo SCAR espécie-específicos, como os de Zijlstra *et al.* (2000) que descreveram esses marcadores para separar *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*. Também foram descritos marcadores para separar as principais espécies encontradas em cafeeiros brasileiros: *M. incognita*, *M. exigua* e *M. paranaensis* (Randig *et al.*, 2002). Mais recentemente foram descritos marcadores para *M. enterolobii*, nematoide das galhas da goiabeira (Tigano *et al.*, 2010), para *M. izalcoensis* e *M. arabicida* (Correa *et al.*, 2013) e *M. ethiopica* (Correa *et al.*, 2014).

Portanto, este estudo teve com objetivo geral identificar espécies de *Meloidogyne* em hortaliças e outras culturas presentes em áreas periurbanas de países da África Subsaariana e, como objetivos específicos: identificar espécies de *Meloidogyne* associados a cultivos olerícolas em áreas periurbanas de países da África subsaariana, com base no fenótipo da isoenzima esterase e marcadores SCAR e, validar primers SCAR para *Meloidogyne* spp.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. África Subsaariana

A África Subsaariana ou África negra corresponde à região sul do deserto do Saara até o extremo sul do continente (Figura 1.). Ao norte se encontra uma organização sócio-econômica muito semelhante à do Oriente Médio, com formação de um mundo predominante islamista. Na África negra, assim denominada pela predominância de povos de pele escura, encontram-se os piores indicadores sociais. São países de rendimento baixo, e alguns apresentam indicadores sócio-econômicos abaixo das expectativas, com carências em setores fundamentais como saúde, educação e transportes, e grande parcela de suas populações vive abaixo da linha da pobreza. A infraestrutura e o nível científico também deixam muito a desejar, muito embora a tendência nos últimos tempos seja de uma melhora contínua (Fernandes, 2010).

Na região da África Subsaariana, 65% da população reside em áreas rurais com falta de recursos tecnológicos, instituições públicas e infraestrutura, porém contam com mão de obra jovem. Ademais, um terço da população vive em situação de insegurança alimentar: milhões de crianças com menos de cinco anos de idade sofrem de sub-nutrição. O problema da fome é agravado pela pobreza, guerras civis e militares, golpes de estado e saúde deficiente. Os custos desses dolorosos episódios são enormes e intensos e não só em termos de sofrimento humano, como também na redução de produtividade econômica e perda de recursos intelectuais (http://fsg.afre.msu.edu/africanhunger/briefing_port.pdf, 2001). Estudos demonstram que a renda per capita na África Subsaariana é muito baixa, com uma média de aproximadamente US\$ 300 por ano. Igualmente seus IDH (Índice de Desenvolvimento Humano) são os mais baixos do globo, e a mortalidade infantil é alta, media de quase 130 mortes por cada 1000 nascidos vivos. Estas questões tornam-se ainda mais problemáticas, devido ao fato que em alguns países, a taxa de analfabetismo chega a alcançar a 70% da população (Fernandes, 2010).

(Allen 2003; Piorr *et al.*, 2011). Elas sofrem das pressões urbanas, mas elas também se beneficiam da proximidade com áreas urbana, o que significa uma mudança sociocultural das zonas rurais para estilos de vida urbanos (Antrop, 2005; Piorr *et al.*, 2011).

A horticultura fornece alimentos ricos em vitaminas, minerais e fitoquímicos, essenciais para manutenção da saúde. Por exemplo, os vegetais folhosos verdes-escuros e as frutas amarelas são recomendados para corrigir a deficiência de vitamina A importante causa de cegueira entre crianças africanas (FAO, 2012).

A organização mundial da saúde estabelece o consumo diário de 400 g de frutas e hortaliças para redução da deficiência de micronutrientes e para prevenir doenças crônicas associadas à alimentação e estilo de vida urbano não saudável. Na maioria das cidades africanas, porém, o consumo está bem abaixo do mínimo recomendado. Um estudo de áreas urbanas em 10 países subsaarianos constatou déficits em sete deles, variando de 40 a 80%. Pessoas com nível de renda mais baixo consomem em média apenas 80 g por dia, por exemplo, o equivalente a uma fatia de abacaxi, e gastam a maior parte do orçamento para satisfazer suas necessidades em calorias (FAO, 2012).

A segurança alimentar e nutricional é um dos principais benefícios da agricultura urbana e periurbanas. Em Cuba, por exemplo, a horticultura urbana e periurbana é responsável por 60% da produção hortícola nacional. Ao fazer uso intensivo da mão de obra, a horticultura comercial cria empregos diretos, fornecimento de insumos, comercialização e adição de valor. Em Hanói (Vietnã), a horticultura urbana é responsável por cerca de 150.000 empregos. A horticultura também pode ser uma solução para resíduos urbanos. Na Índia, a cada ano cerca de 5 milhões de toneladas de resíduos sólidos municipais são compostados e usados como fertilizantes para agricultura. A horticultura periurbana beneficia a cidade criando cinturões verdes, com geração de proteção para áreas frágeis e contenção da expansão urbana e aumento da resiliência às mudanças climáticas (FAO, 2012).

Para que cidades africanas possam usufruir dos benefícios, é ainda necessária uma boa governança, incorporando a horticultura urbana e periurbanas ao planejamento urbano, com vem sendo feito na América Latina e Ásia. Como exemplo o que foi feito na década de 60 na China, onde hoje mais da metade das hortaliças comercializadas e consumidas em Pequim vêm de hortas dentro e dos arredores da cidade. Em resumo, pomares e hortas proporcionam aos grupos de baixa renda, alimentos e um foco para empreendimento compartilhado, que ajuda a criação de comunidades mais saudáveis e estáveis (FAO, 2012).

Poucas cidades africanas tem um levantamento preciso sobre a produção e a extensão de terras cultivadas. Em 2012, a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

analisou a agricultura em 27 países africanos e os resultados demonstraram que a horticultura era o principal componente produzido. Apesar da produção de leite, carne e lenha também serem importantes no Quênia e na Etiópia, a produção de frutas também é significativa na República de Camarões, Guiné e Senegal; a floricultura é amplamente praticada na Nigéria e o cultivo de cogumelos é popular nas cidades de Malawi e Suazilândia (FAO, 2012).

As pesquisas na África Subsaariana identificaram três tipos básicos de horticultura urbana: horticultura doméstica, horticultura comunitária e horticultura comercial. A horticultura doméstica é a forma mais comum de horticultura periurbanas e é responsável por mais da metade da produção urbana de frutas e hortaliças no Burundi, Cabo Verde, Malawi, Mali, Moçambique e Zâmbia. Na escala menor da horticultura doméstica, existe micro hortas: caixotes, potes, sacas, até mesmo pneus, cheios de terra que são usados para cultivar hortaliças e ervas. Em Dakar, 7.500 famílias usam micro hortas para cultivar tomates, alface e pepino, e obtêm renda adicional vendendo os pequenos excedentes. Na favela Kibera em Nairóbi, 11.000 famílias cultivam hortas, que fornecem produtos frescos e uma renda suficiente para pagar a manutenção de serviços básicos (FAO, 2012).

A horticultura comunitária ou em grupo foi a fonte de quase metade dos produtos cultivados localmente em cidades da Namíbia, e contribuía com 20 a 35% da produção em áreas urbanas da Costa do Marfim, Gâmbia e Guiné-Bissau. Localizadas em terras que pertencem aos municípios ou comunidades, as hortas comunitárias fornecem hortaliças para as famílias dos agricultores e grupos carentes. Em Bulawayo (Zimbábue), mais de 1.000 moradores de baixa renda cultivam hortaliças em lotes de 13 ha para consumo próprio e para outras famílias de baixa renda. Em Atteridgeville, perto de Pretória, os moradores de cinco assentamentos informais cultivam hortas que produzem mensalmente 9 kg de hortaliças por família; eles vendem 2 kg para obter uma renda modesta. Vários países têm programas de horticultura escolar (FAO, 2012).

A horticultura comercial, isto é, a produção irrigada de frutas e hortaliças em áreas designadas para tal fim, ou em outros espaços urbanos foi a fonte mais importante de produtos frescos para diversas cidades africanas. De fato, a horticultura comercial urbana e periurbanas produzem a maior parte das verduras consumidas em Acra (Gana), Dakar (Senegal), Bangui (República Centro-Africana), Brazzaville (Congo), Ibadan (Nigéria), Kinshasa (Congo) e Yaoundé (Camarões), cidades que têm uma população total maior que 22 milhões. As hortas comerciais fornecem cerca da metade das verduras em Addis Abeba, Bissau e Libreville (FAO, 2012).

Estudos realizados na África Subsaariana descrevem a horticultura comercial como um “sistema agrícola particularmente bem-sucedido orientado por oportunidades comerciais” e uma “estratégia de subsistência amplamente sustentável, especialmente para as famílias pobres”. Com baixos custos iniciais e curtos ciclos de produção, ela tem altos rendimentos por unidade de terra e água e apresenta retornos rápidos do investimento (FAO, 2012).

Em toda a região, a horticultura comercial tem baixo conteúdo tecnológico e faz uso intensivo de mão de obra. Os produtores geralmente cultivam pequenos lotes individuais de cerca de 600 metros quadrados em Abidjan (Costa do Marfim) e 100 metros quadrados em Acra (Gana), em terras próximas a uma fonte de água. Cultivam uma ampla variedade de hortaliças tradicionais e exóticas, e geralmente as irrigam manualmente usando latas. Em geral, organizam-se em associações informais para fixar os limites das hortas e lotes (FAO, 2012).

A horticultura comercial africana pode ser muito produtiva. Num ano, um hectare de terra em Acra (Gana) pode produzir cinco colheitas de alface, no total de 180 toneladas. Os 500 ha de hortas de Brazzaville (Congo) fornecem 80% de suas verduras consumidas na cidade. Em Yaoundé (Camarões), as hortas nos vales que cortam a cidade produzem alface durante a estação chuvosa, amarantos e erva-moura (*Solanum nigrum* L.) durante a estação seca. Em Nairóbi (Quênia), couve, repolho e espinafre são cultivados em lotes próximos a favelas, ao longo das ferrovias e debaixo das linhas de alta tensão (FAO, 2012). A pobreza geralmente faz com que os habitantes urbanos assumam a produção comercial de hortaliças. Na Costa do Marfim, o horticultor típico é analfabeto, com uma família de cinco a quinze pessoas. Em muitas cidades, a horticultura proporciona pouco mais que meios de subsistência. Porém, em algumas grandes cidades, a renda dos horticultores pode colocá-los acima da linha de pobreza. Sua renda foi estimada em até cinco vezes a renda nacional per capita em Brazzaville (Camarões), Dakar (Senegal) e Nairóbi (Quênia). A renda de um horticultor em Maputo (Moçambique) equivale a quatro vezes a linha nacional de pobreza (FAO, 2012).

1.3. Agricultura e nematoides em cultivos de importância econômica para a África

Os nematoides, isoladamente, ou em conjunto com outros agentes patogênicos, constituem uma restrição importante para a produção mundial (Luc *et al.*, 2005). Embora nem todos os nematoides fitoparasitas sejam de importância econômica, as perdas de produção causadas por eles às culturas agrícolas são estimadas globalmente de 6,9 - 50% (Chitwood, 2003; Smiley, 2005). Os dados sobre as perdas são difíceis de calcular, mas estimativas

demonstram, que só nos Estados Unidos, as perdas anuais podem ultrapassar US\$ 125 bilhões (Chitwood, 2003; Smiley, 2005). Entre os nematoides mais importantes para a agricultura, estão as espécies dos gêneros: *Helicotylenchus*, *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Radophulus* e *Scutellonema*, todos com uma ampla gama de hospedeiros, afetando culturas importantes para países africanos como banana, hortaliças, café, milho, mandioca, cereais, entre outras (Caveness, 1981; McSorley *et al.*, 1983; Page *et al.*, 1990; Coyne & Namaganda, 1994; Kimenju *et al.*, 2004; Campos & Villain, 2005; Arim *et al.*, 2006; Kagoda *et al.*, 2009). Além disso, nematoides podem atuar como vetores de fitovírus, por exemplo, espécies dos gêneros *Longidorus*, *Paralongidorus*, *Xiphinema*, *Trichodorus* e *Paratrachodorus*; alguns também atuam como patógenos de pós-colheita, incluindo *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus sudanensis* Loof & Yassin, 1971 e *Scutellonema bradys* (Steiner & Le Hew, 1933) Andrassy, 1958, em algumas raízes e tubérculos (Coyne *et al.*, 2011; Mudiope *et al.*, 2012), reduzindo a longevidade e comercialização dos produtos. Nematoides também afetam a resistência de plantas a outros patógenos presentes no solo. Infecção por nematoides também pode afetar a fixação de nitrogênio por algumas leguminosas, como e o caso de *Meloidogyne* spp.; além de reduzir a extensão da profundidade da raiz, provocando suscetibilidade das culturas ao estresse hídrico, levando à murcha e perda de rendimento (Sharma *et al.*, 1997; Duponnois *et al.*, 1999; Kimenju *et al.*, 1999; Coyne & Oyekanmi, 2007).

Os danos causados por fitonematoides e seu controle têm pouca atenção na África subsaariana, mesmo com alerta dos riscos de perdas na produtividade. Informações sobre fitonematoides na África é escassa e limitada a relatórios de institutos e resumos de congressos, ao invés de publicações globalmente difundidas (Luc *et al.*, 2005; De Waele & Elsen, 2007). Os valores exatos das perdas causadas por fitonematoides à produção agrícola no continente são raros, particularmente no que se refere a pequenos agricultores. A situação na África é alarmante, visto que, problemas como os causados por nematoides são mais complexos em regiões tropicais e subtropicais, especialmente na agricultura de subsistência (Luc *et al.*, 2005).

1.3.1. Cereais

Cereais constituem a fonte mais importante de alimentos para continente africano e incluem milho (*Zea mays* L.), sorgo (*Sorghum vulgare* Pers.) e arroz (*Oriza sativa* L.); o milho é a mais importante destas culturas, já que é a base da culinária regional (Luc *et al.*, 2005). Os nematoides constituem graves problemas à produção de cereais na África

Subsaariana e diversas espécies têm sido associadas à produção de cereais em Uganda e no Quênia (Kimenju *et al.*, 1998; Talwana *et al.*, 2008).

A cultura do arroz tem ganhado popularidade na África, sendo cultivado em solos irrigados no Quênia e na Tanzânia e, como cultura de sequeiro em grande parte da Uganda (Talwana *et al.*, 2008).

O sorgo é um cereal tradicionalmente cultivado e consumido na África, sendo tolerante à seca o que permite seu cultivo em partes semiáridas do continente (Luc *et al.*, 2005). Além disso, a espécie também é resistente ao encharcamento, com boa produção em solos arenosos e inférteis. *Meloidogyne acronea* Coetzee, 1956 tem sido encontrada causando danos em sorgo na África do Sul. Outras espécies de nematoides também têm sido encontradas no continente, como *Criconemoides* spp., *Meloidogyne* spp., *Mesocriconema* spp., *Paratrichdorus* spp., *Rotylenchus parvus* (Williams, 1960) Sher, 1961 e *Xiphinema* spp. no Quênia, Tanzânia e Zimbábue causando danos à cultura (Taylor, 1976; Page *et al.*, 1990; Bridge, 1995; Bridge, 1995a, Coetzee, 1956; Chitwood, 2003).

O cultivo do milho vem tomando espaço em áreas cultivadas e no consumo em comunidades rurais e urbanas (Luc *et al.*, 2005). O milho também recentemente tem sido incluído entre as culturas de rendimento não tradicionais altamente negociados regionalmente e comprado por muitas organizações de ajuda humanitária para distribuição interna à população carente. Até agora, *Pratylenchus zae* Graham, 1951 e *Meloidogyne* spp. foram demonstradas como os nematoides mais frequentes e abundantes em raízes de milho e sua rizosfera, outras espécies também têm sido observados como as do gênero *Ditylenchus*, *Hoplolaimus*, *Paralongidorus*, *Pratylenchus* (*P. brachyurus* (Godfrey, 1929) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941 e *P. zae*), *Rotylenchulus* (*R. parvus*) e *Xiphinema* (Kimenju *et al.*, 1998; Page *et al.*, 1990; Kimenju *et al.*, 2004; McDonald *et al.*, 2005; Arim *et al.*, 2006; Talwana *et al.*, 2008; Kagoda *et al.*, 2009). A história também releva que sistemas agrícolas africanos de cereais têm baixa rotação de culturas, aumentando o risco de manutenção e aumento da população de nematoides no solo, principalmente *P. zae* (Talwana *et al.*, 2008). Esta prática pode estar associada a perdas de produtividade de até 37% ao ano (Kagoda, *et al.*, 2010).

1.3.2. Banana

O cultivo da banana (*Musa* spp.) é fundamental para a segurança alimentar e sustentabilidade da agricultura em várias regiões de maior altitude das áreas mais úmidas da

África oriental, como as encontradas em Uganda, Tanzânia, Ruanda, Burundi, Quênia ocidental e parte oriental da República Democrática do Congo onde as bananas são tidas como endêmicas (Simmonds, 1966; Sharrock & Frison, 1999). A colheita da banana é realizada ao longo do ano garantindo alimentos e renda. A grande proporção de terras destinadas ao cultivo da banana demonstra sua importância socioeconômica para a África oriental (Davies, 1995; Bagamba *et al.*, 1999). As bananas também oferecem cobertura vegetal que ajuda a manter a fertilidade do solo (Baijukya & Steenhuijsen, 1998; Bekunda, 1999). O cultivo da banana pode permitir o consórcio com outras culturas, criando sistema de uso da terra caracterizado por uma grande diversidade de culturas incluindo não apenas diferentes variedades de bananeiras, mas também feijão, milho, mandioca, inhame, e várias outras culturas (Karamura *et al.*, 1999).

A cultura da banana é muitas vezes praticada por agricultores em pequena escala (Frison & Sharrock, 1999). No entanto, os rendimentos da cultura de banana nas terras altas do Quênia e Uganda mostraram um declínio constante devido a uma série de fatores que incluem infecção e danos por um complexo de nematoides (Nyombi, 2013). Desta forma, seu cultivo têm recebido atenção em relação aos nematoides e seu controle (Talwana *et al.*, 2015). Nematoides associados a danos a bananeiras incluem: *Helicotylenchus* spp., *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus coffeae* Goodey, 1951, *Pratylenchus goodeyi* Sher and Allen, 1953 e *Radopholus similis* Cobb, 1893. Grandes infestações de nematoides têm sido associadas à queda de plantas (Gowen *et al.*, 2005), um problema iniciado por nematoides onde a lesão da raiz é agravada por infecções fúngicas secundárias.

1.3.3. Leguminosas

Leguminosas são culturas importantes especialmente por terem potencial de fixação de nitrogênio, o que melhora a fertilidade do solo. É também uma importante fonte de nutrientes (Sikora *et al.*, 2005; Odendo *et al.*, 2011). O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) tem um centro de origem e diversidade genética nas regiões montanhosas da África e tornou-se uma cultura de grande importância à segurança alimentar e agricultura de subsistência do planalto da África subsaariana (Blair *et al.*, 2010). Os nematoides que causam maiores prejuízos às culturas são os nematoides das galhas em especial *M. incognita* (Kofoid & White, 1919)

Chitwood, 1949 e *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, responsáveis pela redução de 60% da produtividade no Quênia (Ngundo & Taylor, 1974; Kimenju *et al.*, 1999).

O amendoim cultivado (*Arachis hypogaea* L.) é uma leguminosa originária da América do Sul, e é amplamente cultivada em toda África sendo importante cultura rica em carboidratos e proteínas. Nematoides são patógenos primários em todas as áreas produtoras, com perdas estimadas de 12% (Sasser & Freckman, 1987; Chitwood, 2003). Dentre as espécies mais importantes estão *Pratylenchus brachyurus*, *Scutellonema cavenessi* Sher, 1964 e *Ditylenchus africanus* Wendt, Swart, Vrain & Webster, 1995. *Aphelenchoides arachidis* Bos, 1977, tem sido relatada em vagens de amendoim com prejuízos às sementes na Nigéria, e também na África do Sul, e se ainda não estiver presente em outros países da África representam um risco quarentenário (Lesufi *et al.*, 2015).

1.3.4. Raízes e tubérculos

1.3.4.1. Mandioca e inhame

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz.) e inhame (*Dioscorea* spp.) são à base das culturas alimentares e garantem a segurança alimentar e renda para milhões de pequenos agricultores (Gedil & Sartie, 2010). De fato, em alguns países africanos, a mandioca constitui 80% do consumo per capita de alimentos à base de amido (Sharma *et al.*, 1997).

A mandioca é muitas vezes vista como resistente ou imune ao ataque de nematoides, mesmo assim são hospedeiras de uma grande diversidade de nematoides, incluindo *Meloidogyne* spp. e *P. brachyurus*, que causam perdas significativas (Coyne, 1995; Bridge *et al.*, 2005). Os danos são agravados quando a infecção ocorre em plantas jovens, variando com a espécie do nematoide e com a cultivar plantada (Bridge *et al.*, 1991; Makumbi-Kidza *et al.*, 2000).

O inhame, é uma cultura de fonte de amido difundida em toda a África. O nematoide, *Scutellonema bradys* (Steiner & LeHew, 1933) Andrassy, 1958, que ocorre na maior parte da África ocidental, afeta os tubérculos e causa a "podridão seca" mesmo na ausência de outros organismos. No entanto, a "podridão úmida" ou "podridão aguada" também têm sido associadas com infecções fúngicas e bacterianas, incluindo *Serratia* sp. e *Erwinia* sp., que podem ser agentes infecciosos secundários (Coyne *et al.*, 2003; Asare-Bediako *et al.*, 2007). Em Uganda, o nematoide *Pratylenchus sudanensis* Loof & Yassin, 1971, foi observado causando sintomas semelhantes aos de *S. bradys*, enquanto que *Meloidogyne* spp. são

particularmente relevantes e altamente prejudiciais, causando apodrecimento e necrose, especialmente durante o armazenamento (Coyne *et al.*, 2003; Mudiope *et al.*, 2012).

1.3.4.2. Batata

A batata (*Solanum tuberosum* L.) chegou à África aproximadamente no século XX. A produção está em contínua expansão e, países como Quênia, Malawi e Uganda estão entre os 11 maiores produtores. A batata é cultivada principalmente no altiplano da África subsaariana, em áreas com altitudes entre 1000 e 3000 m de altitude (<http://www.fao.org/potato-2008/en/world/africa.html>) e nos últimos anos tem expandido para áreas mais quentes e zonas úmidas da África.

O nematoide da batata, *Globodera rostochiensis* Wollenweber, 1923, foi introduzido em áreas mais frias da África subsaariana, e recentemente registrado no Quênia e que, segundo a EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) e a NAPPO (North American Plant Protection Organization) é um dos principais problemas da cultura, além de ser uma espécie quarentenária (www.eppo.int/QUARENTENA/listA2.htm; http://www.pestalert.org/opr_search.cfm). Os juvenis em cistos podem sobreviver no solo por até 25 anos, e medidas profiláticas devem ser tomadas para evitar a introdução destes em solos livres, assim como evitar a introdução de *Meloidogyne* que também ataca raízes e tubérculos e são um dos principais entraves para a produtividade e comercialização da batata (Scurrah *et al.*, 2005).

Outra espécie quarentenária, *Ditylenchus destructor* Thorne, 1945, também conhecido como o nematoide da podridão da batata, tem sido observada no Quênia (Bridge, 1995; Talwana *et al.*, 2015). Esse nematoide provoca o apodrecimento interno dos tubérculos e, assim, reduz o rendimento da cultura, sendo facilmente disseminado pelo material de propagação. Dada à importância crescente da cultura e, com exceção da África do Sul, existe uma escassez de conhecimento sobre os nematoides, em muitas das áreas de cultivo de batata na África (Talwana *et al.*, 2015).

1.3.4.3. Batata doce

A batata-doce (*Ipomoea batatas*, Lam.) é o terceiro alimento mais importante em sete países da África oriental e central, ficando atrás apenas da mandioca e milho. A rápida expansão do cultivo é devido a uma variável gama de fatores, incluindo mudanças nos padrões de cultivo induzidas por grandes problemas de doenças da mandioca e da banana (<http://cipotato.org/research/sweetpotato-in-africa/>). A cultura da batata doce é hospedeira de

várias espécies de nematoides, alguns de importância econômica. *Rotylenchus reniformis* Linford & Oliveira, 1940, *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* spp. são os principais grupos que infectam a batata-doce (Akoroda *et al.*, 2000; Coyne, 2005). Entretanto, pouco se sabe sobre populações de nematoides nas culturas da batata doce, em países da África subsaariana.

1.3.5. Culturas de rendimento

1.3.5.1. Café

Em vários países produtores de café (*Coffea* spp.) da África subsaariana, nematoides são responsáveis por reduzir a produtividade e aumentar os custos de produção. *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* spp. são os grupos de nematoides mais importantes para a cultura, causando perdas de rendimento estimadas em 15%. Espécies de *Meloidogyne* tem sido relatadas em café na África, incluindo *M. incognita*, *M. africana* Whitehead, 1960, no Quênia e *M. decalineata* Whitehead, 1968, na Tanzânia e São Tomé (Whitehead, 1969; Lordello & Fazuolli, 1980; Bridge, 1995). Duas espécies de *Meloidogyne* são endêmicas na África subsaariana: *M. africana* e *M. decalineata* (Bridge, 1995; Verhaeven, 2014), porém há pouca informação disponível sobre a biologia e as perdas de rendimento causadas por *Meloidogyne* spp. em áreas de café no continente.

1.3.5.2. Algodão

Entre os sistemas agrícolas de subsistência em áreas semiáridas, o algodão (*Gossypium* spp.) é muitas vezes plantado como principal fonte de renda. O algodão é o segundo principal produto de exportação na Tanzânia, atrás apenas do café, contribuindo com US\$ 90 milhões às receitas de exportação (Baffes, 2002). *Meloidogyne* spp. estão entre os principais patógenos do algodão. *M. incognita* está amplamente distribuída em cultivos no continente, principalmente na Tanzânia, Uganda e Zimbábue (Bridge, 1992).

As plantas infectadas são mais propensas à murcha de *Fusarium*, principalmente em condições adversas, tais como seca e temperatura elevada. *Meloidogyne incognita* na Tanzânia é um grave patógeno e, está relacionado ao aumento da incidência da fusariose vascular causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* W.C. Snyder & H.N. Hansen, 1940 (Hillocks & Bridge, 1992; Bridge, 1995). Na Tanzânia o nematoide reniforme, *R. reniformis* é frequentemente encontrado, além de *S. brachyurus* (Steiner, 1938) Andrassy, 1958, *S. clathricaudatum* Whitehead, 1959, *S. magniphasmum* Andrassy, 1958 e *S. unum* Sher, 1963 (Birchfield, 1962; Bridge, 1992, 1995; Hillocks & Bridge, 1992).

1.3.5.3. Cana de açúcar

A cana de açúcar (*Saccharum* spp.) é uma cultura produzida em larga escala na África, mas também é plantada por pequenos agricultores. Como uma cultura de importância mundial tem sido o foco de muitas pesquisas em relação à incidência de nematoides (Luc *et al.*, 2005). O número de espécies de nematoides que parasitam a cana de açúcar é maior do que para qualquer outra cultura (Cadet & Spauill, 2005). Isto é em parte devido à sua monocultura contínua, com pequenos intervalos entre a remoção da velha soca e o replantio, mas também está relacionado com a sua distribuição de raízes superficiais propícias à incidência de nematoides, dos quais *P. zae* é relatado como sendo o mais comum no Quênia (Chirchir *et al.*, 2008, 2011).

Espécies de *Meloidogyne* são importantes para a cultura da cana de açúcar em toda a África subsaariana, sendo *M. incognita* e *M. javanica* as de maior ocorrência.

1.3.5.4. Fumo

Os colonizadores europeus introduziram a cultura do fumo (*Nicotiana* spp.) em grande escala e o comércio de tabaco globalizado desta cultura no final do século XIX. O tabaco passou a se tornar um dos principais produtos de exportações para o Zimbábue na década de 1990, quando o setor de manufatura começou a declinar. Hoje em dia representa cerca de 60% do total das exportações agrícolas do Zimbábue. O crescimento da indústria pode ser atribuído ao aumento do número de produtores, incluindo os pequenos agricultores do Zimbábue. O tabaco, embora não seja uma cultura alimentar, é economicamente importante em muitas partes da África, incluindo os países da África subsaariana, dos quais o Zimbábue é o principal produtor. Os nematoides mais importantes para o tabaco na África são *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* spp., embora outras espécies possam causar problemas (Johnson *et al.*, 2005).

1.3.5.5. Plantas ornamentais

O cultivo de plantas ornamentais em países da África subsaariana é geralmente feito em terras anteriormente plantadas com culturas agrícolas. Há relatos de nematoides que infectavam culturas anteriores e que adaptaram-se às plantas ornamentais, e com a capacidade de causar graves danos. Por exemplo, em Uganda, casas de vegetação foram erguidas em terrenos anteriormente plantados com bananas, havendo vários problemas causados por nematoides em cravos (*Dianthus caryophyllus* L.) e rosas (*Rosa* spp.), embora alguns deles podem ter sido introduzidos por água de irrigação contaminada. Espécies de *Aphelenchoides*,

Ditylenchus e *Meloidogyne* foram relatadas em plantas ornamentais (Talwana *et al.*, 2015; Bridge, 1995). Nematoides dos três gêneros são comumente associados a ornamentais herbáceas perenes, um segmento em rápida expansão da indústria da floricultura na região, em que, por exemplo, cravo (*Dianthus caryophyllus* L.) ocupa em média 500 hectares no Quênia, principalmente em casa de vegetação, devido às exigências do mercado em expansão (Kimenju *et al.*, 2014; Lnagat *et al.*, 2008). Propagação vegetativa de mudas de plantas ornamentais podem também resultar em aumento da dispersão e distribuição de nematoides. Os sintomas atribuídos aos nematoides podem variar de praticamente nenhum à redução no crescimento, murcha, deficiência de nutrientes ou até mesmo a morte da planta, quando em combinação com organismos secundários. Por exemplo, o fungo *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel 1945, geralmente infecta folhas, previamente infectadas com nematoides foliares, assim disfarçando sintomas induzidos por nematoides e aumentando a mortalidade das plantas (Talwana, 2015).

1.3.5.6. Horticultura

As hortaliças são um importante componente da alimentação humana, e com o aumento da urbanização desempenham um papel crescente em sistemas de cultivo periurbanos, exigindo, assim, o desenvolvimento de sistemas de cultivo intensivos e comercialmente mais eficientes. A falta de conhecimento sobre os nematoides e seu comportamento nesses novos sistemas continuam a ser um grande desafio para horticultura na África subsaariana. Tal cultivo intensivo, sem dúvida, resulta em um acúmulo de nematoides com consequente redução da produção (Gowen, 2002, Gowen *et al.*, 2005). No entanto, apesar de perdas elevadas, a associação de nematoides com plantas olerícolas é negligenciada e as espécies de nematoides continuam a ser mal diagnosticadas (Bafokuzara, 1996; Bridge, 1996). Como resultado, muitos horticultores desconhecem a ocorrência de nematoides como patógenos agrícolas (Bridge, 1996). Embora a produção de hortaliças venha sendo conduzida de forma convencional, há necessidade de manejo apropriado quando há ocorrência de nematoides, especialmente em sistemas periurbanos, onde, sem controle, esses parasitas podem devastar as plantações (Sikora & Fernández, 2005).

Embora nem todos pequenos agricultores reconheçam nematoides como uma restrição biológica, cerca de 20% dos produtores de hortaliças usam nematicidas (Oruko & Ndun'gu, 2001; Gowen, 2002). Estimativas de perdas de 20% foram atribuídas a *Meloidogyne* no Quênia, mas as perdas podem chegar a 50% ou até a quebra total da safra, principalmente devido a *M. incognita* e *M. javanica* (Kanyagia, 1980).

Meloidogyne spp. estão entre os principais patógenos do repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) (Maina *et al.*, 2010), assim como os principais patógenos do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), causando perdas de rendimento consideráveis (Bafokuzara, 1996; Otipa *et al.*, 2009). *Meloidogyne incognita* muitas vezes é a espécie mais comumente identificada em cultivos de hortaliças (Sikora & Fernandez, 2005).

Nematoides do gênero *Pratylenchus* são conhecidos por seu impacto sobre o rendimento das culturas globalmente. No Quênia, esses nematoides têm sido considerados como uma ameaça à horticultura (Maina *et al.*, 2010), onde ocorrem em altas densidades populacionais. Entre as espécies detectadas destacam-se *P. brachyurus*, *P. loosi* Loof, 1960, *P. neglectus* (Rensch, 1924) Filipjev and Schuurmans Stekhoven, 1941, *P. scribneri* Steiner, 1943 e *P. zae* (Maina *et al.*, 2010). Em Uganda, os nematoides das lesões têm sido relatados em cenoura (*Daucus carota* L.), repolho (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.), pimenta (*Capsicum* spp.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.) e quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) (Bafokuzara, 1996).

Helicotylenchus spp. ocorrem com frequência, isoladamente, ou em conjunto com espécies de outros gêneros. Esses nematoides também têm uma ampla gama de hospedeiros e são encontrados em culturas, incluindo hortaliças como couve (*Brassica oleracea* L.), pimentão (*Capsicum annuum* L. var. *annuum*), tomate, cenoura e repolho, no Quênia e Uganda (Bafokuzara, 1996; Maina *et al.*, 2010).

Rotylenchulus spp., foram encontradas associadas às culturas de pimenta, tomate, quiabo e couve no Quênia e Uganda (Bafokuzara, 1996; Maina *et al.*, 2010), embora as opiniões variem quanto ao real impacto desses nematoide na olericultura.

Outras espécies relevantes têm sido relatadas como *Pratylenchus vulnus* Allen & Jensen, 1951 no Quênia. Nematoides de diversos gêneros têm sido observados parasitando hortaliças como *Belonolaimus*, *Hemicycliophora*, *Hoplolaimus*, *Longidorus*, *Paratrichodorus*, *Trichodorus*, *Tylenchorhynchus*, *Scutellonema* e *Xiphinema* todos relatados no Quênia. Em Uganda nematoides pertencentes aos seguintes gêneros foram encontrados associados à horticultura, *Criconemoides*, *Hemicycliophora*, *Hoplolaimus*, *Quinisulcius*, *Scutellonema* e *Xiphinema*. Nematoides dos gêneros *Tylenchus*, *Filenchus* e *Coslenchus* também são abundantes, embora não pareçam ter importância econômica significativa para cultura das hortaliças (Bridge, 1995; Bafokuzara, 1996).

1.4. Ocorrência de *Meloidogyne* spp. no continente africano

Algumas espécies de *Meloidogyne* têm sido relatadas no continente africano, apesar de serem pouco estudados, quando comparados a outros continentes como Europa e América.

Meloidogyne arenaria (Neal, 1889) Chitwood, 1949, *M. javanica* e *M. incognita* já foram relatadas em todas as regiões do continente africano, ocorrendo em culturas de importância econômica como hortaliças, batata, tabaco, algodão, soja, banana, feijão, arroz, mandioca e outras espécies de menor importância econômica (Adesiyun & Odihirin, 1978; Ebbels, 1979; Khan & Dabaj, 1980; Caveness, 1981; Van Wyk, 1985; Dabaj, 1987; Fargette, 1987; Kanygia, 1988; Lamberti, 1988; Sikora *et al.*, 1988; Swai *et al.*, 1996; Trudgill *et al.*, 2000; CABI & EPPO, 2002, 2002a, 2003; Kwerepe & Labuschagne, 2004; Daramola *et al.*, 2013).

Outras espécies de grande importância econômica para a agricultura mundial também têm sido relatadas em alguns países do continente africano: *M. enterolobii* Yang & Eisenback, 1983, relatado em Malawi, Senegal, África do Sul, Costa do Marfim, Burquina Faso, República Democrática do Congo (CABI e EPPO, 2005; Coyne *et al.*, 2006; Onkendi & Moleleki, 2013, 2013a), *M. exigua* em Moçambique (Coyne *et al.*, 2006) e *M. hapla* em diversos países (Fourie *et al.*, 2001; CABI e EPPO, 2002b).

Outras espécies de *Meloidogyne* de ocorrência restrita, ou não, têm sido relatadas no continente africano como *M. acronea* (Whitehead & Kariuki, 1960; Hunt & Handoo, 2009), *M. africana* (Whitehead, 1959; Eisenback, 1997), *M. chitwoodi* Golden, O'Bannon, Santo and Finley, 1980, (Kleynhans *et al.*, 1996; Fourie *et al.*, 2001; Coyne *et al.*, 2006), *M. decalineata* (Whitehead, 1968; Lordello & Fazuoli, 1980), *M. falax* Karssen, 1996 (Fourie, 2001), *M. graminicola* Golden & Birchfield, 1965, (Kleynhans, 1991), *M. hispanica* Hirschmann, 1986, (Kleynhans, 1991), *M. kikuensis* De Grisse, 1960, (De Grisse, 1960; Kleynhans, 1991), *M. megadora* Whitehead, 1968, (Whitehead, 1968; Eisenback, 1997), *M. morociensis* Rammah & Hirschmann, 1990 (Rammah & Hirschmann, 1990), *M. naasi* Franklin, 1965, (Coyne, 1996), *M. oteifai* Elmiligy, 1968, (Elmiligy, 1968), *M. partityla* Kleynhans, 1986 (Kleynhans, 1991), *M. propora* Spaul, 1977 (Spaul, 1977) e *M. vandervegti* Kleynhans, 1988, (Kleynhans *et al.*, 1996).

1.5. Gênero *Meloidogyne*

1.5.1. Classificação do gênero *Meloidogyne*

Espécies de gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887 constituem uma pequena parte do Filo Nematoda (Maggenti, 1981) e estão incluídas dentro da classe Chromadorea, ordem Rhabditida, Subordem Tylenchina, Infraordem Tylenchomorpha, Superfamília Tylenchoidea e Família Meloidogynidae (De Ley & Blaxter, 2002; Karssen & Moens, 2006). Atualmente existem cerca de 100 espécies descritas no gênero *Meloidogyne*, até hoje apenas 22 foram relatadas no continente africano (Onkendi *et al.*, 2013).

1.5.2. Ciclo de vida

O ciclo de vida de *Meloidogyne* tem início com a oviposição da fêmea em um único local da raiz, formando uma massa de ovos envoltos por uma matriz gelatinosa (Taylor & Sasser, 1983). Essa matriz gelatinosa mantém os ovos unidos e protegidos contra condições ambientais adversas e predação, além de apresentar propriedades antimicrobianas (Orion & Kritzman, 1991). No interior dos ovos, o desenvolvimento embrionário levará à formação no juvenil de primeiro estágio (J1) que passa por uma ecdise, dando origem ao juvenil de segundo estágio (J2) ainda dentro do ovo. De maneira geral, o J2 eclode do ovo quando existe condições ambientais favoráveis à sua sobrevivência, tais como temperatura apropriada, disponibilidade de oxigênio, níveis de umidade do solo adequados e ausência de barreiras fisiológicas, como, por exemplo, a diapausa (Curtis *et al.*, 2009). Esse estágio móvel, vermiforme e infectante migra através do solo atraído por sinais químicos liberados pelas raízes das plantas e assim penetram nas raízes da hospedeira. Há evidências de que quando presentes nas raízes de plantas suscetíveis e resistentes, as suscetíveis atraem maior número de J2 (Curtis *et al.*, 2009).

Os J2s penetram na raiz por força mecânica e move-se por entre as células dos tecidos da planta, estes migram até a zona de alongação da raiz, na periferia do cilindro central, e estabelecem seus sítios de alimentação no parênquima vascular, iniciando assim um complexo e íntimo relacionamento com a planta (Taylor & Sasser, 1983). O início da alimentação do J2 em células do protoxilema e profloema induz a diferenciação dessas células em células especializadas, chamadas células gigante multinucleadas (Moens *et al.*, 2009). Uma vez que as células gigantes são iniciadas, o nematoide torna-se sedentário e ocorre então a segunda ecdise passando de J2 para J3 (juvenil de terceiro estágio), a terceira ecdise, de J3 para J4 (juvenil de quarto estágio) e a quarta ecdise de J4 a fêmea jovem (Eisenback & Triantaphyllou, 1991; Moens *et al.*, 2009). O ciclo de vida do macho ocorre de forma

semelhante. Logo após a última ecdise, a fêmea jovem começa a se alimentar, permanecendo ali o restante de sua vida. Ocorre a hiperplasia e hipertrofia das células comprometidas resultando, via de regra, na formação da galha radicular (Eisenback & Triantaphyllou, 1991).

A formação de galhas radiculares pode variar entre as espécies de *Meloidogyne* e as plantas hospedeiras. *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949, por exemplo, é particularmente conhecida pela incidência elevada de raízes adventícias que se desenvolvem a partir das galhas radiculares (Sasser, 1954 apud Moens *et al.*, 2009). Em algumas hospedeiras, as galhas podem ser pequenas ou indistintas a olho nu, resultando muitas vezes na não identificação do parasitismo (Moens *et al.*, 2009).

Os machos, quando presentes, são vermiformes e não há evidências de que se alimentam (Moens *et al.*, 2009). A mudança de forma nos machos (piriforme para adulto vermiforme) ocorre durante o quarto estágio juvenil (J4) (Eisenback & Triantaphyllou, 1991). A maioria das espécies de *Meloidogyne* se reproduz por partenogênese. Algumas por partenogênese meiótica facultativa, mas várias das espécies economicamente mais importantes, tais como *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria*, possuem modo de reprodução partenogênético mitótico obrigatório (Castagnone-Sereno, 2006).

Em condições ambientais favoráveis, a quase totalidade dos adultos formados de *Meloidogyne* spp. são fêmeas. Porém, em condições adversas, com elevada população de nematoides na raiz ou resistência da planta hospedeira, os juvenis que se desenvolveriam em fêmeas, podem tornar-se machos, em que seu primórdio sexual se desenvolve em testículos em vez de ovários. Tal fenômeno é conhecido por reversão sexual e é um dos mecanismos de sobrevivência desses nematoides, pois menos ovos serão produzidos e o parasitismo sobre a planta infectada será menor, garantindo a sobrevivência das fêmeas formadas (Freitas *et al.*, 2006).

A duração do ciclo de vida do nematoide das galhas é fortemente afetada pela temperatura, umidade e planta hospedeira. Em geral, o ciclo possui duração de vinte e cinco dias em condições ideais. As fêmeas produzem ovos por três semanas, depois cessam a produção, podendo viver um pouco mais. Os machos vivem semanas e os J2 podem viver de poucos dias a meses (Taylor & Sasser, 1983).

1.5.3. Identificação de *Meloidogyne* spp.

A identificação precisa das espécies de *Meloidogyne* é difícil e, às vezes, baseada em caracteres subjetivos. Além disso, a diagnose é bastante dificultada pelo elevado número de espécies descritas, presença de espécies crípticas e pela existência de variabilidade

intraespecífica. Além do mais, existe a problemática em relação ao conceito de espécie para organismos predominantes partenogenéticos (Trudgill, 1991; Roberts, 1995; Hunt & Handoo, 2009).

Os principais métodos empregados na diagnose de *Meloidogyne* spp., são caracteres morfológicos e, sobretudo, caracterização bioquímica e molecular (Eisenback & Hunt, 2009).

Dentre os métodos morfológicos, a configuração perineal de fêmeas maduras foi o mais utilizado na identificação de *Meloidogyne* spp. Essa região contém estrias formando desenhos que permitiram durante muitos anos a separação das espécies. Entretanto, os padrões perineais quando usados, isoladamente, na identificação de espécies são subjetivos e pouco precisos, sendo úteis como métodos complementares a serem utilizados, juntamente com a caracterização enzimática e/ou molecular (Carneiro *et al.*, 2004; Carneiro & Cofcewicz, 2008).

Estudos bioquímicos, envolvendo proteínas solúveis, foram realizados nos últimos 30 anos, e têm se destacado como uma das técnicas mais confiáveis na identificação de *Meloidogyne* spp. por serem a esterase espécie-específicas e a malato desidrogenase auxiliar, sendo possível a identificação de cerca de 40 espécies diferentes (Blok & Powers, 2009).

O advento da técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction) fez progredir de maneira considerável os métodos de análises de DNA e levou à descrição de outras classes de marcadores moleculares, que associadas às técnicas de clonagem e sequenciamento de DNA, têm possibilitado o rápido acúmulo de informações sobre a estrutura de genomas (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

A técnica RAPD (Radom Amplified polymorphic DNA) é baseada na técnica de PCR, e é utilizada atualmente para os estudos genéticos de variabilidade de espécies de *Meloidogyne*, a partir de perfis de bandas geradas com o auxílio de primers randômicos (Cenis, 1993; Castagnone-Sereno *et al.*, 1994; Blok *et al.*, 1997; Randig *et al.*, 2002). Mais recentemente, os marcadores de RAPD têm sido convertidos em marcadores SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions), termo utilizado por Paran & Michelmore (1993) para determinar marcadores de RAPD, cujas sequências tenham sido determinadas, permitindo compor primers mais longos, ricos em guanina e citosina e de sequências específicas. Para *Meloidogyne* spp. já foram desenvolvidos marcadores moleculares tipo SCAR espécie-específicos, como os de Zijlstra (2000) que descreveu marcadores tipo SCAR capazes de separar *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*. Também foram descritos marcadores para separar as principais espécies encontradas em cafeeiros brasileiros: *M. incognita*, *M. exigua* e *M. paranaensis* Carneiro, Carneiro, Abrantes, Santos & Almeida, 1996, (Randig *et al.*, 2002).

Mais recentemente foram descritos marcadores para *M. enterolobii* Yang & Eisenback, 1983, nematoide de galhas da goiabeira (Tingano *et al.*, 2010). Foram também descritos marcadores para *M. hapla* e *M. chitwoodi* (Williamson *et al.*, 1997), *M. arabicida* Lopez & Salazar, 1989 e *M. izalcoensis* Carneiro, Almeida, Gomes & Hernandez, 2005 (Correa *et al.*, 2013).

1.5.4. Identificação morfológica e morfométrica

Até o presente momento a base da taxonomia e da classificação de *Meloidogyne* spp. é a morfologia (Eisenbak & Hunt, 2009). Com o advento do microscópio eletrônico de varredura e de transmissão, foram adicionadas várias características à morfologia dos nematoides, pois revelaram detalhes das superfícies externas e das estruturas internas com clareza. Porém, para o uso da morfologia na taxonomia, é importante que se conheça a amplitude da variabilidade de um caráter em particular, sob diferentes condições. Os caracteres morfométricos e morfológicos tendem a variar sob influência de condições geográficas e ecológicas, que resultam em ecotipos e populações hospedeiro-específicas. Tais populações são, algumas vezes, descritas como espécies novas, embora as diferenças entre elas sejam variações intraespecíficas de espécies conhecidas (Hunt & Handoo, 2009).

Devido à similaridade morfológica e morfométrica entre espécies de *Meloidogyne*, o mais apropriado é ponderar uma combinação de caracteres diferenciais de fêmeas, machos e juvenis de segundo estágio (Carneiro & Cofcewicz, 2008). Porém na diferenciação de *Meloidogyne*, os caracteres morfológicos são mais utilizados do que os morfométricos, uma vez que esses últimos podem ser mais afetados pelas condições ambientais (Hunt & Handoo, 2009).

Estudos ao microscópio ótico e ao microscópio eletrônico de varredura, envolvendo a região anterior e estiletos de machos, fêmeas e J2 e a região perineal de fêmeas maduras, fornecem dados necessários à caracterização interespecífica de *Meloidogyne* spp. (Eisenback & Hunt, 2009).

As fêmeas sedentárias do gênero *Meloidogyne* apresentam coloração esbranquiçada, corpo piriforme e comprimento médio de 0,44-1,30 mm e largura de 0,325-0,700 mm (Eisenback, 1985). Em várias espécies, as fêmeas têm corpo simétrico com pescoço e região perineal em linha reta. Em algumas espécies o pescoço pode projetar-se formando um ângulo 15-90° (Eisenback & Triantaphyllou, 1991).

O estilete das fêmeas de *Meloidogyne* é do tipo estomatoestilete, consiste de um cone, que em muitas espécies é pouco curvado dorsalmente, a haste reta se apoia em bulbos basais

de altura, largura e disposição variáveis (Hunt & Handoo, 2009). Em vários casos a morfologia do estilete pode ser espécie-específica (Eisenback & Triantaphyllou, 1991).

O orifício da glândula esofágica dorsal está localizado posteriormente aos bulbos basais do estilete (Karssen & Moens, 2006). A distância da abertura da glândula esofágica dorsal aos nódulos do estilete tem ampla variação entre as espécies (2-10 μm) e pode ser importante na identificação destas espécies (Jepson, 1987). O poro excretor está sempre localizado anteriormente ao bulbo mediano do esôfago, porém esta posição varia muito dentro e entre as espécies e não caracteriza um bom critério para diagnóstico (Eisenback & Triantaphyllou, 1991);

As fêmeas são didélficas e as duas gônadas são longas e ocupam a maior parte do corpo. Cada gônada é composta de um ovário com zona germinativa e zona de crescimento, um oviduto, espermateca globular e útero longo (Eisenback & Triantaphyllou, 1991). Existem seis glândulas retais que secretam material gelatinoso, em que os ovos não retidos no corpo são depositados exteriormente (Hunt & Handoo, 2009).

Observação da configuração da região perineal de *Meloidogyne* spp. foi uma das principais formas utilizadas na identificação de espécies do gênero (Ferraz & Monteiro, 1995). Porém, a utilização dessa técnica na identificação de espécies do gênero *Meloidogyne* leva a muitos erros, devido à ocorrência de variações nas configurações perineais, mesmo em populações vindas de uma mesma massa de ovos (Moura, 1996). Por exemplo, *M. paranensis* foi identificada como *M. incognita*, por vários anos no Brasil (Carneiro *et al.*, 1996), o mesmo também ocorreu por muitos anos na Guatemala (Carneiro *et al.*, 2004). A morfologia dos machos é essencial para o diagnóstico de algumas espécies, como: *M. paranaensis*, *M. konaensis* Eisenback *et al.*, 1994, e *M. incognita* (Carneiro *et al.*, 2004). Os machos são vermiformes, não sedentários, com corpo de comprimento de 700-2000 μm e isso se deve à variação nas condições ambientais durante o seu desenvolvimento (Eisenback, 1985). Características morfométricas tais como, comprimento do corpo, do esôfago, da cauda e largura do corpo possuem valor taxonômico (Eisenback & Triantaphyllou, 1991), mas, a região anterior e a morfologia do estilete são as fontes de caracteres morfológicos mais importantes (Eisenback & Triantaphyllou, 1991).

O comprimento do estilete dos machos tem uma ampla variação dentro do gênero (13-30 μm); embora muitas espécies tenham em média 18-24 μm , isso representa uma característica diferencial entre as espécies. Tamanho e forma do cone do estilete, da haste e dos bulbos são excelentes fontes de informações na identificação de machos. A distância da

abertura da glândula esofagiana dorsal aos nódulos do estilete varia de 2-13 μm (Hunt & Handoo, 2009).

A posição do poro excretor dos machos exibe uma ampla variação intraespecífica e tem valor limitado como característica diferencial. O hemizonídio está localizado anteriormente ao poro excretor e pode auxiliar na identificação apenas de algumas espécies nas quais o poro excretor esteja localizado posteriormente (Eisenback & Triantaphyllou, 1991).

Os machos geralmente apresentam um longo testículo. Em muitas espécies o campo lateral tem quatro incisuras. A cauda é muito pequena, abruptamente arredondada e sem bursa. Pequenos fasmídios estão posicionados próximos à cloaca. Os espículos são longos, variando de 20-40 μm (Eisenback & Triantaphyllou, 1991).

Os juvenis de segundo estágio são vermiformes, anelados com tamanho que varia de 250-600 μm (Karssen & Moens, 2006). Várias espécies se sobrepõem quanto ao comprimento do corpo, portanto essas características são inadequadas na identificação das espécies. Devido ao tamanho pequeno dos J2, é difícil discernir a morfologia da região cefálica. Os J2 têm características similares aos machos, as quais somente podem ser visualizadas ao microscópio eletrônico de varredura. Em geral, a morfologia da região labial é similar entre as espécies. Algumas espécies, entretanto, diferem na forma do disco labial, dos lábios medianos e laterais e na ocorrência de anelações na região labial (Eisenback & Triantaphyllou, 1991).

Os J2s têm um estilete delicado que mede em média 8-18 μm de comprimento (Eisenback & Triantaphyllou, 1991). A distância da abertura da glândula esofagiana dorsal ao estilete varia de 2-8 μm , assim como a posição do hemizonídio é posterior ao poro excretor; esses são caracteres que também auxiliam na identificação das espécies (Eisenback & Triantaphyllou, 1991). Nos J2s, uma das principais fontes de caracteres morfológicos utilizados é a morfologia e morfometria da cauda (Jepson, 1987). Algumas espécies claramente podem ser diferenciadas pelo comprimento da cauda que varia de 15-100 μm . Diferenças no comprimento da cauda e/ou no comprimento da parte hialina da cauda são características suficientes para distinguir certas espécies dentro dos grupos de espécies formados por Jepson (1987).

1.5.5. Identificação bioquímica

Os primeiros estudos sobre uso de enzimas como método de identificação para *Meloidogyne* spp. foi realizado por Dickson *et al.* (1971), seguido por Hussey *et al.* (1972), com base nos padrões das enzimas esterase, malato-desidrogenase e α -glicerofosfato desidrogenase. Nesses primeiros estudos, ambos conduzidos na Universidade do Estado da

Carolina do Norte, um extrato de proteína bruta de centenas de fêmeas adultas de uma dada espécie de *Meloidogyne* foi submetido à electroforese em gel de poliacrilamida e apropriadamente corado para revelar o fenótipo de uma enzima. As enzimas esterase, malato-desidrogenase e α -glicerofosfato desidrogenase mostraram indícios de serem úteis na identificação das quatro espécies mais comuns de *Meloidogyne* (*M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. hapla*).

Posteriormente, Bergé & Dalmaso (1975) e Dalmaso & Bergé (1978), na França expandiram os estudos dessas proteínas utilizando maior número de populações de *Meloidogyne* de origem diversificada e maior número de espécies. Esses mesmos investigadores também minimizaram o sistema de electroforese, utilizando géis de acrilamida expressos em tubos finos de vidro, inicialmente de 2 mm de diâmetro, mas, eventualmente, utilizando tubos de hematócrito de apenas 1,1 mm de diâmetro. Tal miniaturização dos géis permitiram a gravação do fenótipo de uma enzima a partir de extratos proteicos de apenas uma fêmea adulta por gel.

Um esforço grande para estudar populações adicionais foi feito mais tarde em colaboração e com o apoio do International Meloidogyne Project. Aproximadamente 300 populações, provenientes de 65 países de vários continentes representando 16 espécies de *Meloidogyne*, foram estudadas com relação a quatro sistemas enzimáticos, isto é, esterases, malato-desidrogenase, superóxido-dismutase e glutamato-oxaloacetato transaminase (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985). As esterases, como em estudos anteriores, foram as mais úteis na identificação das principais espécies. Nestes estudos, foram consideradas apenas as principais bandas de atividade enzimática. Bandas menores, que tinham sido gravadas anteriormente na expectativa de ser específicas de raça, foram julgadas como muito variáveis para uma avaliação objetiva, sendo então ignoradas.

Até hoje as isoenzimas do tipo esterase (EST) são as mais utilizadas na identificação de espécies de *Meloidogyne*, com mais de 40 fenótipos descritos (Blok & Powers, 2009). Outras enzimas como malto-desidrogenase (MDH), superóxido dismutase (SOD) e glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) são às vezes incluídas em estudos para caracterização de espécies previamente identificadas (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985). A MDH tem se mostrado como um critério auxiliar na diferenciação de espécies cujas esterases são idênticas, como é o caso de *M. naasi* Franklin, 1965 e *M. exigua* Goeldi, 1887 (Esbenshade & Triantaphyllou, 1990).

A técnica de eletroforese de isoenzimas consiste na avaliação da migração relativa das enzimas. A mobilidade das enzimas em gel de poliacrilamida sob corrente elétrica, de acordo

com cargas elétricas e pesos moleculares, levando à visualização de bandas de esterase em diferentes posições no gel, as quais são específicas para a maioria das espécies de *Meloidogyne*. As principais vantagens dessa técnica são: a identificação de espécies de *Meloidogyne* spp. puras ou em misturas, caracterização de populações atípicas, eficiência, confiabilidade e rapidez (Carneiro *et al.*, 2000; Blok & Powers, 2009).

Outros estudos sobre caracterização de populações de *Meloidogyne* spp. com fenótipos enzimáticos, especialmente esterase e malato desidrogenase, foram realizados por Carneiro *et al.* (1996a). Noventa populações brasileiras de *Meloidogyne* spp. foram estudadas e identificadas como *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. exigua*, *M. hapla* e *M. graminicola* Golden & Birchfield, 1965. Em outro trabalho Carneiro *et al.* (2000) analisaram quatro enzimas distintas (esterase, malato-desidrogenase, superóxido dismutase e glutamato oxaloacetato transaminase) na caracterização de 100 populações originárias de diferentes localidades do continente americano. Foi possível determinar 34 fenótipos enzimáticos para diferentes espécies de *Meloidogyne*, incluindo 18 de esterase, 6 de malato-desidrogenase, 5 de superóxido dismutase e 5 de glutamato oxaloacetato transaminase. Foram identificadas *M. javanica*, *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. coffeicola* Lordello & Zamith, *M. paranaensis*, *M. konaensis*, *M. exigua* e *M. enterolobii* (= *M. mayaguensis*).

Em estudos realizados por Carneiro *et al.* (2004) com populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de cafezais de diferentes regiões do Brasil, América Central e Havaí, procederam a identificação das populações com base nos fenótipos de estase (EST), tendo sido identificadas: *M. incognita* (EST I1 e I2), *M. paranaensis* (EST P1 e P2), *M. arenaria* (EST A2), *M. arabicida* (Est AR2), *M. exigua* (EST E1), *M. enterolobii* (EST E4) e duas espécies atípicas, das quais uma posteriormente foi descrita como *M. izalcoensis* (Carneiro *et al.*, 2005).

Ainda não existem padrões enzimáticos para todas as espécies descritas no gênero *Meloidogyne*. A variabilidade intraespecífica a nível enzimático é geralmente muito baixa, por serem enzimas produzidas por meio da expressão de genes altamente conservados e representam apenas uma fração muito pequena do genoma funcional, enquanto que as regiões não codantes são mais abundantes e submetidas a extensivas mudanças evolutivas (McLain *et al.*, 1987).

1.5.6. Identificação molecular

Estudos baseados em análise de DNA aumentaram a partir de 1985 e foram desenvolvidos conjuntos de primers espécie-específicos que possibilitam a identificação

rápida de algumas espécies do gênero *Meloidogyne* (Zijlstra, 2000; Randig *et al.*, 2002). A abordagem atual é a conversão dos marcadores de RAPD cuja sequência interna tenha sido determinada, permitindo compor primers, mais longos, ricos em G-C e de sequência específica.

Os marcadores SCAR-PCR são muito sensíveis e possibilitam a detecção de espécies presentes em mistura de populações em proporções iguais ou inferiores a 1% (Fourie *et al.*, 2001; Randig *et al.*, 2004).

Os marcadores SCAR-PCR já foram desenvolvidos para identificar as espécies: *M. chitwoodi* e *M. falax* Karssen, 1996, ambas quarentenárias e *M. hapla* (Zijlstra, 2000). Ainda foram desenvolvidas para separar outras três espécies: *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*, altamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais (Zijlstra *et al.*, 2000; Randig *et al.*, 2002; Meng *et al.*, 2004). Marcadores do tipo SCAR foram descritos também para *M. izalcoensis* e *M. arabicida* (Correa *et al.*, 2013), *M. enterolobii* (Tingano *et al.*, 2010) e *M. ethiopica* Whitehead, 1968, (Correa *et al.*, 2014). Essa técnica além de identificar as espécies, avalia o potencial de detecção de mistura de espécies em amostras, possibilitando o diagnóstico rápido destas espécies através do tamanho das bandas obtidas (Randig *et al.*, 2002). Entretanto, ainda são poucas as espécies, cerca de 10, que podem ser identificadas por marcadores do tipo SCAR (Blok & Powers, 2009).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Populações de *Meloidogyne* spp.

As amostras nematológicas foram coletadas pela equipe do Dr. Danny Coyne, do Internacional Institute of Tropical Agriculture (IITA) localizado no Quênia.

As populações de *Meloidogyne* spp. estudadas são provenientes de regiões periurbanas do Benin, Nigéria, Quênia, Tanzânia e Uganda, em áreas cultivadas com amarantos (*Amaranthus* spp.), berinjela (*Solanum melongena* L.), cenoura (*Daucus carota* L.), espinafre (*Spinacia oleracea* L.), mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), pimentão (*Capsicum annuum* L. var. *annuum*), quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench), repolho (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*), sálvia roxa (*Salvia dorrii* (Kellogg) Abrams), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) e café (*Coffea* spp.).

Na Nigéria foram avaliadas populações de áreas periurbanas do estado de Oyo (Figura 2A). Em Uganda populações dos distritos de Wakiso, Mukono, Luwero, Kayunga, Gomba, Nakasongola e Namulonge (Figura 2B). No Quênia, populações das cidades de Lamu

(Distrito de Lamu), Kilifi (Distrito de Kilifi), Oloitoktok (Distrito de Kajiado), Taveta (Distrito de Taita - Taveta) e nas vilas de Mangu, Gatundu e Kabete (Município de Kiambu). No Benin, populações da cidade de Cotonou (Departamento Litoral), Pahou Ouidah (Departamento Atlantique) (Figura 2C e 2D).

Na Tanzânia foram avaliadas populações da região de Donge (Ala Kariakoo no Distrito de Ilala), Unguja Ukuu, Fuoni Melinne e Tindini (arquipélago de Zanzibar); Hembeti, Dakawa, Msongozí, Dibamba e Miali (Distrito de Mvomero em Morogoro); Kianjai (cidade de Meru), Mufindi e Fox (Cidade de Mufindi); Pangani e Kwamsisi (Distrito de Mkinga em Tanga); Kisse (Distrito de Mkuranga em Pwai) e Boko Kawe (Distrito de Kinondoni em Dar) (Figura 2E).

As populações de *Meloidogyne* spp. coletadas foram inoculadas em tomateiros. Após a multiplicação do inóculo, as massas de ovos em solução salina a 2% foram enviadas para Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Embrapa, Cenargen), em Brasília, DF, Brasil, em tubos tipo eppendorf. Vale ressaltar que as amostras foram autorizadas pelo MAPA para entrada no Brasil.

No Brasil, as massas de ovos foram inoculadas em tomateiros cv. Santa Clara e mantidas em casa de vegetação por três meses. Após esse período foram extraídas fêmeas para análises bioquímicas e ovos para análises moleculares. Novas plantas de tomate foram plantadas no solo infestado e mantidas em casa de vegetação até a conclusão dos estudos. Ao fim das análises, algumas populações foram criopreservadas e mantidas na coleção de nematoides da Embrapa Cenargen.

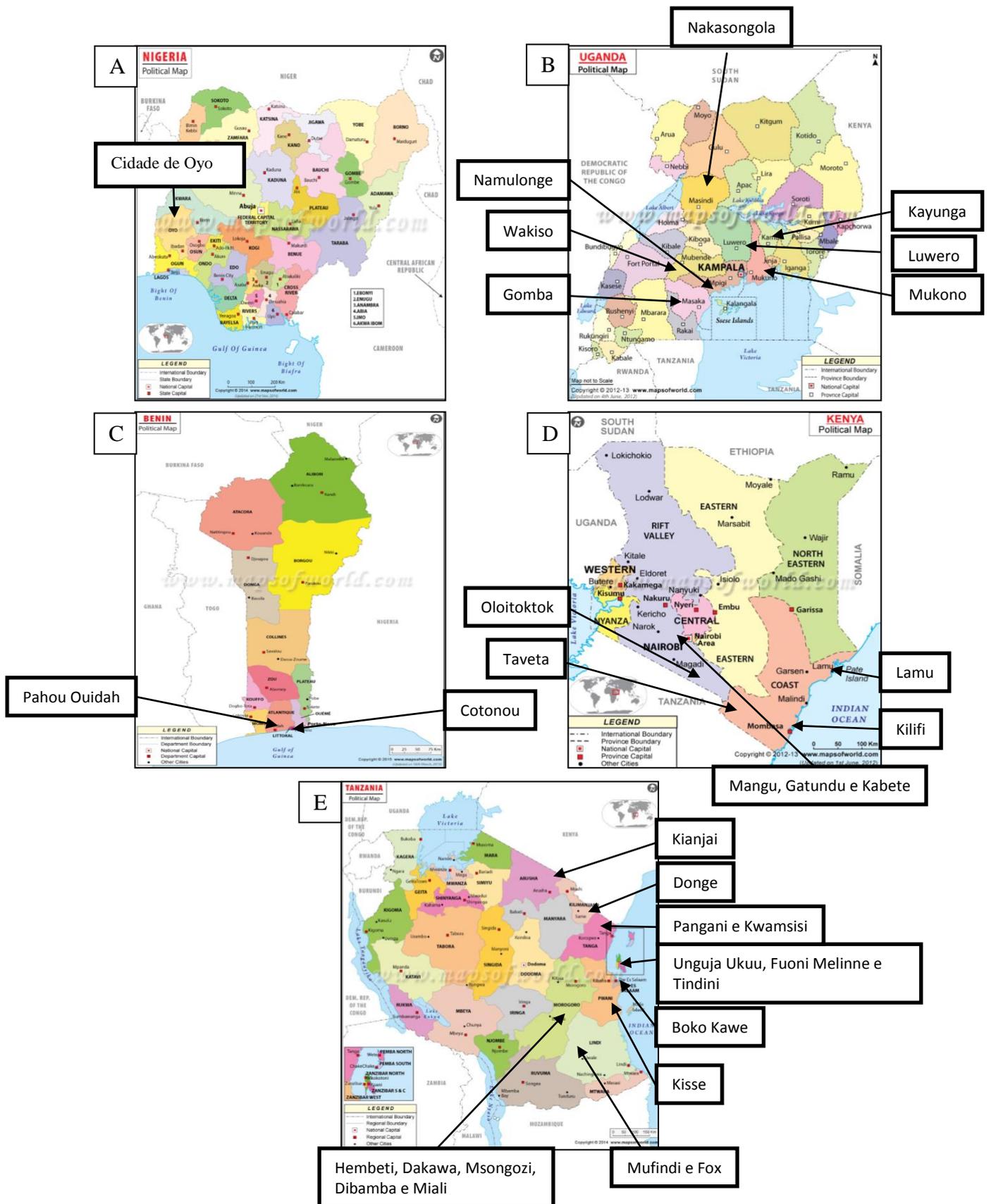


Figura 2. Locais de coleta das diferentes populações de *Meloiodyne*. (A) Nigéria; (B) Uganda; (C) Benin; (D) Quênia e (E) Tanzânia.

2.2. Identificação das espécies de *Meloidogyne* por eletroforese de isoenzimas

A identificação das populações de *Meloidogyne* foi realizada a partir dos perfis enzimáticos de esterase (EST), em gel de poliacrilamida, de acordo com a metodologia descrita por Carneiro & Almeida (2001). As fêmeas foram obtidas de raízes de tomateiro (*S. lycopersicum*) cv. Santa Clara, infectadas com *Meloidogyne* spp. Foram coletadas fêmeas jovens e fêmeas adultas, de coloração branco leitosa, iniciando a oviposição. As fêmeas foram retiradas individualmente da raiz, com auxílio de estilete metálico, sob microscópio estereoscópico e transferidas para tubo tipo hematócrito, contendo 5 ml de solução de extração (Sacarose/Triton X-100). Os tubos foram mantidos em recipiente com gelo durante todo o processo de extração das amostras. As fêmeas foram trituradas utilizando pistão de aço de extremidade arredondada, a suspensão obtida foi aplicada, com auxílio de uma seringa Hamilton sobre papel Whatman (3 mm), com dimensões de 1,5 x 4,0 mm. Logo em seguida, as tiras de papel foram introduzidas nas cavidades do gel de poliacrilamida; na primeira cavidade do gel foi colocado extrato de fêmeas de *M. javanica*, perfil EST J3, utilizado como padrão; as amostras foram marcadas com azul de bromofenol a 0,1%, para acompanhamento da corrida. A corrida foi realizada à temperatura de 4°C, sob corrente elétrica de 80-120V, por aproximadamente 2 horas. Após a corrida, o gel foi revelado em solução específica para a isoenzima esterase (alfa-naftil-acetato, fast blue RR salt e tampão de fosfato de sódio) preparada imediatamente antes do uso. Após incubação no escuro a 37°C por 30-60 minutos, os géis foram lavados em água corrente e fixados em solução de água destilada, álcool metílico e ácido acético na proporção de 5:5: 1 por 30 minutos; em seguida, secos entre folhas de papel celofane. Ao final foram calculados os Rms, sendo avaliada a migração relativa em relação à primeira banda de *M. javanica*, EST J3.

2.3. Extração de ovos para análises moleculares

Neste trabalho foram utilizadas 22 populações de *Meloidogyne* spp., 14 populações africanas já identificadas por fenótipos de isoenzima esterase (Carneiro & Almeida, 2001) e as demais também já identificadas em trabalhos anteriores pelo mesmo método. Foram testados 5 primers, descritos como espécie-específicos para as espécies encontradas neste trabalho (Tabela 1).

A extração de ovos, para posterior extração de DNA, foi realizada seguindo a metodologia descrita por Carneiro *et al.* (2004) relatada a seguir: nematoides de cada

população foram multiplicados em tomateiro (cv. Santa Clara) após três meses as plantas foram retiradas dos vasos, mantidos em casa de vegetação, e as raízes lavadas em água corrente, cortadas e trituradas em liquidificador em hipoclorito de sódio (NaOCl) [1,25%] por 40 segundos. Em seguida, o triturado foi passado em um jogo de peneiras sobreposta (20, 100 e 500 mesh). O material retido na peneira de 500 mesh foi lavado em água corrente e transferido para béquer. O material coletado foi distribuído em tubos tipo falcon de 50 ml aos quais foi adicionado Caulim (5g) em cada tubo, esses foram centrifugados por cinco minutos a 2000g. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi suspenso em solução de sacarose a 30% e a suspensão centrifugada à mesma velocidade por dois minutos. Em seguida, o sobrenadante foi vertido em peneira de 500 mesh e lavado com água destilada para eliminar os resíduos de sacarose. O material retido na peneira foi transferido para béquer, logo depois distribuídos em tubos tipo falcon de 15 ml e centrifugado a 2000g por três minutos; o sobrenadante foi eliminado com auxílio de pipeta Pasteur. O precipitado foi transferido para microtubos de 1,5 ml e centrifugado a 10.000g por 2 minutos, em seguida o sobrenadante foi eliminado com auxílio de pipeta semi-automática (P200), sendo que os ovos foram armazenados a -80°C até o momento da extração do DNA.

2.4. Extração de DNA para análises moleculares

O DNA genômico de todas as populações de nematoides foi extraído a partir de alíquotas de 100 a 200 µl de ovos, de acordo com a metodologia descrita por Randig *et al.* (2002).

Os ovos previamente extraídos e armazenados a -80°C foram macerados em nitrogênio líquido. O material foi recuperado em tubos “eppendorf” de 2 ml, ao qual foi adicionado 500 µl de tampão NIB (0,1 M NaCl; 30 mM Tris pH 8; 10 mM EDTA; 0,7 mM β-mercaptoetanol; 5 mM Triton – NPHO). Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 14000g por 2 minutos e eliminado o sobrenadante. Em seguida, foram acrescentados 800 µl de tampão de homogeneização (0,1 M NaCl; 0,2 M Sacarose; 10 mM EDTA) e 200 µl de tampão de lise (0,125 M EDTA; 0,5 M Tris Ph 9,2; 2,3% SDS). Após a homogeneização, as amostras foram incubadas a 55°C por trinta minutos, seguidos de dez minutos à temperatura ambiente.

A purificação foi realizada adicionando-se 1:1 (v/v) de fenol, seguindo-se à homogeneização e centrifugação a 14000g por três minutos. O sobrenadante foi recuperado e em seguida misturado a fenol + clorofórmio (1:1) e centrifugado a 14000g por três minutos. Ao sobrenadante foram adicionados 200 µl de éter e após a centrifugação a 14000g por três minutos e, o sobrenadante foi eliminado com auxílio de micropipeta.

Para precipitação do DNA foi adicionado etanol 100% na proporção de 1:1 (v/v) ao sobrenadante, efetuando-se a homogeneização e observando-se a formação do 'pellet'. A precipitação foi realizada a -80°C durante três minutos. Em seguida efetuou-se a centrifugação a 14000g por dez minutos. O sobrenadante foi descartado e ao pellet adicionou-se etanol a 70%, a 4°C. Após a centrifugação a 14000g por cinco minutos, eliminou-se o etanol. O precipitado foi seco à temperatura ambiente, recuperado em 10-20 µl de água esterilizada (mili-Q) e armazenado a -20°C. A concentração de DNA foi estimada em gel de agarose a 1% pela comparação do DNA total com diferentes concentrações de DNA lambda.

2.5. Identificação de espécies por marcadores moleculares tipo SCAR

As reações de amplificação do PCR - SCAR foram realizadas num volume final de 25µl contendo 2µl de DNA total [3ng/µl]; 1 µl de cada primer [10µM] (Tabela 1); 4,0 µl de dNTP [1,25 mM] (Invitrogen); 2,5 µl de Tampão 10X sem magnésio (Invitrogen); 0,75 µl MgCl₂ [25mM] (Invitrogen); 0,25 de Taq DNA polimerase [5000u/ml] (Invitrogen) e 12,5 ml de H₂O Milli-Q; ao final de cada de reação foi acrescido uma gota de óleo mineral. As amplificações foram realizadas em termociclador (PTC-100, MJ Research). As condições para amplificação de DNA para as diferentes especies estão resumidas na Tabela 2.

Todas as populações foram testadas para os 5 primers, sendo que as reações foram realizadas separadamente e corridas no mesmo gel.

Tabela 1. *Primers* utilizados nas reações de PCR-SCAR para a identificação de espécies de *Meloidogyne*. Embrapa Cenargen, 2016.

Espécies	Marcadores	Sequência (3' -5')	Altura da banda (pb)	Referência
<i>M. izalcoensis</i>	Iz-AB2F	GGAAACCCCTAATTAGGATACACT	670	Correa <i>et al.</i> , 2013
	iz-AB2R	CGCTTGATTTGAGCAGTAGG		
<i>M. incognita</i>	inc-K14F	GGGATGTGTAAATGCTCCTG	399	Randig <i>et al.</i> , 2002
	inc-K14R	CCCCTACACCCTCAACTC		
<i>M. enterolobii</i>	Mk7F	GATCAGAGGGCGGGCGCATTGCGA	520	Tingano <i>et al.</i> , 2010
	Mk7R	CGAACTCGCTCGAACTCGAC		
<i>M. arenaria</i>	Far	TCGGCGATAGAGGTAAATGAC	420	Zijlstra <i>et al.</i> , 2000
	Rar	TCGGCGATAGACACTACAAC		
<i>M. javanica</i>	Fjac	GGTGCGGATTGAACTGAGC	670	Zijlstra <i>et al.</i> , 2000
	Rjav	CAGGCCCTTCAGTGGAACTATAC		

Pb: Pares de base.

Tabela 2. Condições de amplificação para as diferentes espécies de *Meloidogyne*. Embrapa Cenargen, 2016.

Espécies	Marcadores	Desnaturação inicial	Ciclos				Extensão final	Altura da banda (pb)
			Número de ciclos	Desnaturação	Anelamento do primer	Polimerização		
<i>M. izalcoensis</i>	Iz-AB2F	94°C/ 5min.	30	94°C/ 30seg.	67°C/	70°C/ 1min.	70°C/	670
	iz-AB2R				45seg.			
<i>M. incognita</i>	inc-K14F	94°C/ 5min.	25	94°C/ 30seg.	64°C/	70°C/ 1min.	70°C/	399
	inc-K14R				45seg.			
<i>M. enterolobii</i>	Mk7F	94°C/ 5min.	28	94°C/ 30seg.	62°C/	70°C/ 1min.	70°C/	520
	Mk7R				30seg.			
<i>M. arenaria</i>	Far	94°C/ 5min.	35	94°C/ 30seg.	61°C/	70°C/ 1min.	70°C/	420
	Rar				45seg.			
<i>M. javanica</i>	Fjac	94°C/ 5min.	35	94°C/ 30seg.	61°C/	70°C/ 1min.	70°C/	670
	Rjav				30seg.			

Pb: Pares de base.

2.6. Análise dos dados

Ao final da identificação das espécies de *Meloidogyne* foi analisada a frequência de espécies por região e cultura.

$$\text{Frequência de ocorrência} = \frac{\text{Número de populações de determinada espécie}}{\text{Total de populações avaliadas na região ou cultura}} \times 100$$

3. RESULTADOS

3.1. Identificação de espécies a partir de eletroforese de isoenzimas

Entre as populações de *Meloidogyne* spp. avaliadas nos cinco países foram encontrados nove perfis de esterase, um total de seis espécies identificadas, duas populações atípicas, sendo um perfil sem nitidez: *Meloidogyne arenaria*, EST A2; *M. enterolobii*, EST E4; *M. javanica*, EST J3, EST J2a e J2b; *M. izalcoensis*, EST I4; *M. incognita*, EST I1 e EST I2; *M. hapla* EST H1; *Meloidogyne* spp., EST Sp1 e EST Sp2 (Figuras 3 e 4). Vários fenótipos ocorreram em diferentes misturas (Figura 3.).

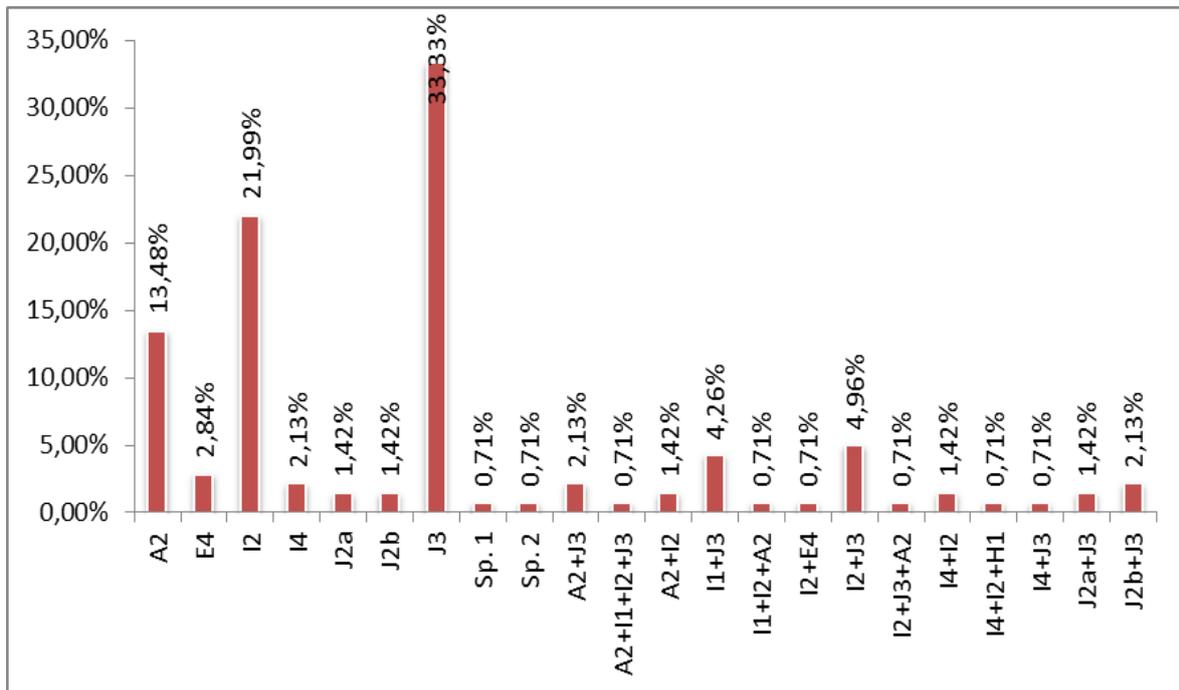


Figura 3. Ocorrência (%) de diferentes perfis da isoenzima esterase de espécies de *Meloidogyne* provenientes de áreas periurbanas do Benin, Nigéria, Quênia, Tanzânia e Uganda. A2- *M. arenaria*; E4 – *M. enterolobii*; I1 e I2 – *M. incognita*; I4 – *M. izalcoensis*; J2a, J2b e J3 – *M. javanica*; H1 – *M. hapla*. Embrapa Cenargen, 2016.

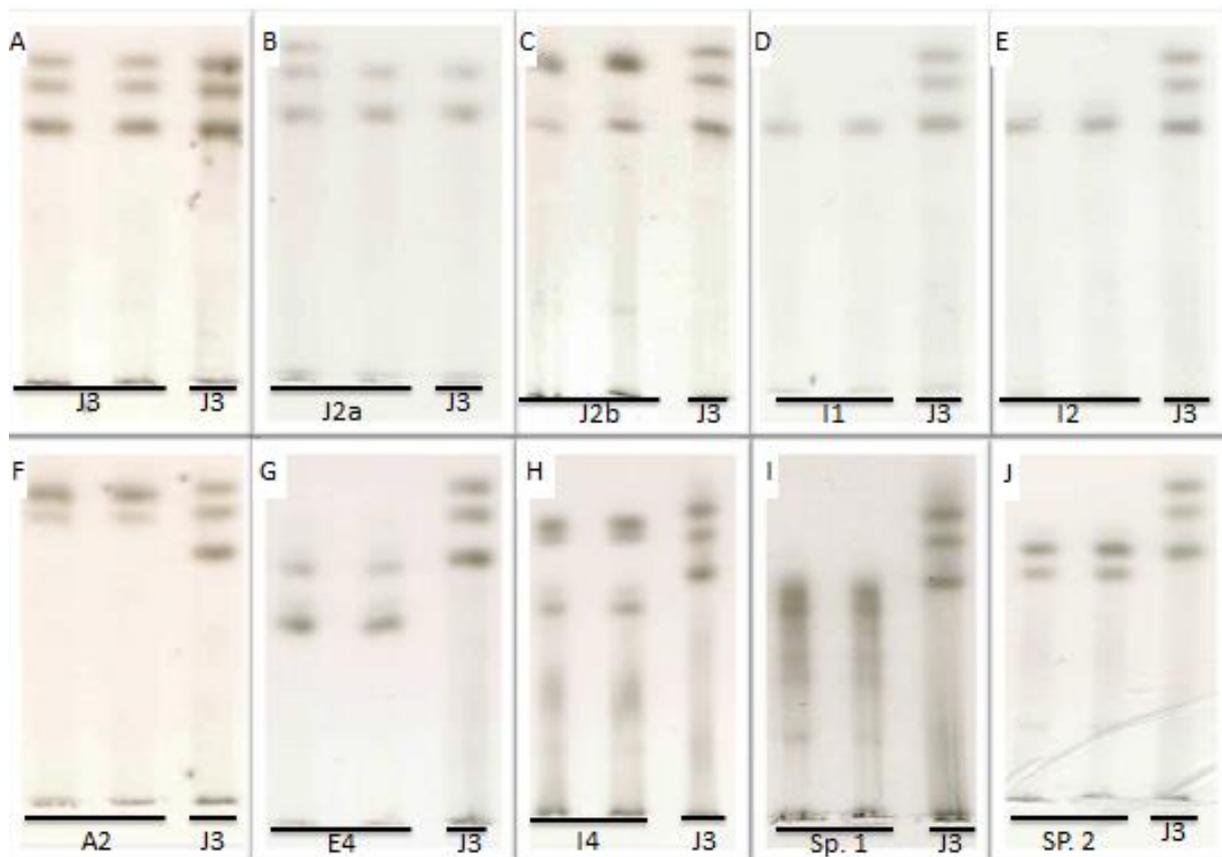


Figura 4. Perfis de esterase (EST) observados em populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de áreas periurbanas de cinco países africanos. (A) populações do distrito de Mukuno e Wakiso, Uganda; (B) População do distrito de Mukono, Uganda; (C) População do distrito de Wakiso, Uganda; (D) População da região de Oniboure Farm, estado de Oyo, Nigéria; (E) População da cidade de Cotonou, Benin; (F) População da região de Unguja Ukuu, Tanzânia; (G) População da região de Ilora, estado de Oyo, Nigéria; (H) População da cidade de Cotonou, Benin; (I) População da região de Taita-Taveta, Quênia; (J) População da região de Msongosi, Tanzânia. (A2) – *M. arenaria*; (I1 e I2) – *M. incognita*; (J3, J2b, J2a) – *M. javanica*; (E4) – *M. enterolobii*; (I4) – *M. izalcoensis*; (Sp1 e Sp2) – *Meloidogyne* spp.; *M. javanica* (EST J3) foi usada como referência em cada gel. Embrapa Cenargen, 2016.

Na Nigéria foram avaliadas sete populações do estado de Oyo em áreas periurbanas cultivadas com tomateiros. Foram observadas a ocorrência de três espécies e quatro perfis de esterase. Foram encontradas: *M. enterolobii*, EST E4; *M. incognita*, EST I1 e I2 e *M. javanica*, EST J3 e também foram observadas espécies em populações mistas: *M. incognita* (EST I1) ocorrendo em mistura com *M. javanica* (EST J3) e *M. incognita* (EST I2) em mistura com *M. enterolobii* (EST E4) (Tabela 3). A espécie *M. enterolobii* (EST E4) foi

observada com maior frequência, presente em 71% das populações analisadas no país. Embrapa Cenargen, 2016.

Tabela 3. Ocorrência (%) de *Meloidogyne* spp. em áreas periurbanas do estado de Oyo na Nigéria. Embrapa Cenargen, 2016.

Espécie	Fenótipo de esterase	Rm*	Oniboure farm	Micro plot - IITA	Akobo farm	Bagbon farm	Ilorra	Total	Culturas
<i>M.incognita</i>	I2	1,0; 1,1	-	-	-	-	100%	14%	Tomate
<i>M. enterolobii</i>	E4	0,75; 0,95	-	-	100%	100%	-	57%	Tomate
<i>M. incognita</i> + <i>M. javanica</i>	II + J3	1,0. 1,0; 1,25; 1,4	100%	-	-	-	-	14%	Tomate
<i>M. incognita</i> + <i>M. enterolobii</i>	I2+E4	1,0; 1,1. 0,75; 0,95	-	100%	-	-	-	14%	Tomate

Rm.* = Mobilidade Relativa (mm).

(-): Não ocorre.

No Benin foram encontradas duas espécies de *Meloidogyne* nas cinco populações analisadas: *M. incognita*, EST I2 e *M. izalcoensis*, EST I4. As populações de *M. incognita* foram encontradas em áreas periurbanas da cidade de Cotonou, em cenoura e em Pahou Ouidah, em cultivos de quiabo e amarantos. *Meloidogyne izalcoensis* foi encontrada apenas em áreas da cidade Cotonou em sálvia roxa e repolho (Tabela 4.). *Meloidogyne izalcoensis* teve sua identificação confirmada por marcadores tipo SCAR.

Tabela 4. Ocorrência (%) de *Meloidogyne* spp. em área periurbanas do Benin. Embrapa Cenargen, 2016.

Espécie	Fenótipo de esterase	Rm*	Cotonou	Pahou Ouidah	Total	Cultura
<i>M.izalcoensis</i>	I4	0,86; 0,96; 1,24; 1,30	67%	100%	40%	Salvia roxa e Repolho
<i>M.incognita</i>	I2	1,0; 1,1	33%	-	60%	Cenoura, Quiabo e Amarantos

Rm.* = Mobilidade Relativa (mm).

(-): Não ocorre.

No Quênia foram analisadas doze populações de seis regiões e foram encontradas três espécies e uma população atípica de *Meloidogyne* (EST Sp. 1, gel com bandas indistintas) (Figura 2.). Foram encontradas: *M. incognita*, EST I2; *M. izalcoensis*, EST I4; *M. javanica*,

EST J2b e EST J3 (Figura 2.). Na região de Lamu foi observada a ocorrência de *M. incognita*, EST I2; *M. javanica*, EST J2b e observou-se também a ocorrência de uma população de *M. javanica* com a presença de dois perfis de esterase, uma mistura de EST J3 e EST J2b. Na região de Taveta foi observada uma população de *M. javanica*, EST J3; uma população mista de *M. incognita*, EST I2 e *M. javanica*, EST J3 e foi encontrada uma população atípica (*Meloidogyne* sp.1) que produz um perfil de esterase atípico com bandas pouco nítidas. Tanto as populações relatadas em Lamu e Taveta ocorreram em áreas de produção de tomate. Nas demais regiões foram observadas *M. incognita*, EST I2 em Kilifi em áreas de tomateiro; *M. javanica*, EST J2b, foi observada no Distrito de Kajiado também em tomateiro; *M. javanica*, EST J3 nas vilas de Mangu e Ciatundu em cafeeiros. *Meloidogyne izalcoensis*, EST I4, foi relatada na vila de Kabete em café (Tabela 5). A identificação foi confirmada por marcadores SCAR.

Tabela 5. Ocorrência (%) de *Meloidogyne* spp. em área periurbanas do Quênia. Embrapa Cenargen, 2016.

Espécies	Fenótipo de esterase	Rm.*	Município de Kiambu			Distrito de Lamu	Distrito de Taita - Taveta	Distrito Kajiado	Distrito de Kilifi	Total	Cultura
			Mangu	Ciatundu	Kabete	Lamu	Taveta	Oloitoktok	Kilifi		
<i>M. javanica</i>	J3	1,0; 1,25; 1,4	100%	100%	-	75%	33%	-	-	25%	Café, Tomate
<i>M. javanica</i>	J2b	1,0; 1,25	-	-	-	-	-	100%	-	8%	Tomate
<i>M. javanica</i>	J3 + J2b	1,0; 1,25; 1,4; 1,0; 1,25	-	-	-	25%	-	-	-	8%	Tomate
<i>M. izalcoensis</i>	I4	0,86; 0,96; 1,24; 1,30	-	-	100%	-	-	-	-	8%	Café
<i>M. incognita</i>	I2	1,0; 1,1	-	-	-	-	-	-	100%	33%	Tomate
<i>M. sp.</i>	Sp.1	-	-	-	-	-	33%	-	-	8%	Tomate
<i>M. incognita</i> + <i>M. javanica</i>	I2+J3	1,0; 1,1; 1,0; 1,25; 1,4	-	-	-	-	33%	-	-	8%	Tomate

Rm.*: Mobilidade Relativa (mm)

(-): Perfil indistinto

Em Uganda foram analisadas sessenta e seis populações de sete distritos. Foram encontradas três espécies e seis perfis de esterase: *M. incognita*, EST I1 e I2; *M. javanica*, EST J2a, J2b e J3 e *M. arenaria*, EST A2. *Meloidogyne javanica*, EST J3, ocorreu em todos os distritos analisados, num total de vinte e sete populações ocorrendo isoladamente e doze ocorrendo em mistura com *M. incognita* (EST I1 e EST I2); *M. arenaria*, EST A2; *M. javanica*, EST J2a e J2b em plantas de tomate, pimentão, mandioca e berinjela. Outros perfis de *M. javanica* (EST J2a e J2b) foram relatados ocorrendo isoladamente no Distrito de

Mukuno em tomateiro. *Meloidogyne incognita*, EST I1, foi observada apenas nos distritos de Luwero e Mukuno, ocorrendo em mistura com *M. arenaria*, EST A2 e *M. incognita*, EST I2, em culturas de tomate, pimentão e mandioca. O perfil EST I2 de *M. incognita*, foi observado em 15% das populações analisadas, ocorrendo em Wakiso, Mukuno, Namulonge e Nakasongola, isoladamente, e em mistura com outras espécies em tomateiro e pimentão. *Meloidogyne arenaria*, EST A2, foi observada em 28% das populações, ocorrendo isoladamente nos distritos de Wakiso, Kayunga e Namulonge, e ocorrendo em mistura com outras espécies nos distritos de Luwero e Gomba, todas em tomateiros (Tabela 6).

Tabela 6. Ocorrência (%) de *Meloidogyne* spp. em distritos de Uganda, Embrapa Cenargen, 2016.

Espécies	Fenótipo de esterase	Rm*	Wakiso	Mukuno	Luwero	Kayunga	Gomba	Nakasongola	Namulonge	Total	Culturas
<i>M. incognita</i>	I2	1,0; 1,1	5%	11%	-	-	-	-	33%	8%	Tomate e Mandioca
<i>M. javanica</i>	J3	1,0; 1,25; 1,4	10%	57%	50%	80%	50%	50%	33%	42%	Tomate e Berinjela
<i>M. javanica</i>	J2a	1,0; 1,4	-	7%	-	-	-	-	-	3%	Tomate
<i>M. javanica</i>	J2b	1,0; 1,25	-	4%	-	-	-	-	-	2%	Tomate
<i>M. arenaria</i>	A2	1,2; 1,3	70%	-	-	20%	-	-	33%	24%	Tomate
<i>M. incognita</i> + <i>M. javanica</i>	I2 e J3	1,0; 1,1. 1,0; 1,25; 1,4	5%	-	-	-	-	25%	-	3%	Tomate
<i>M. incognita</i> + <i>M. javanica</i>	I1 e J3	1,0. 1,0; 1,25; 1,4	5%	14%	-	-	-	-	-	8%	Tomate, Pimentão e Mandioca
<i>M. arenaria</i> + <i>M. javanica</i>	A2 e J3	1,2; 1,3. 1,0; 1,25; 1,4	-	-	-	-	50%	-	-	2%	Tomate
<i>M. javanica</i>	J2b + J3	1,0; 1,25. 1,0; 1,25; 1,4	5%	-	25%	-	-	25%	-	5%	Tomate
<i>M. javanica</i>	J2a e J3	1,0; 1,4. 1,0; 1,25; 1,4	-	4%	-	-	-	-	-	2%	Tomate
<i>M. arenaria</i> + <i>M. inconita</i> + <i>M. javanica</i>	A2, I1, I2 e J3	1,2; 1,3. 1,0. 1,0; 1,1. 1,0; 1,25; 1,4	-	4%	-	-	-	-	-	2%	Pimentão
<i>M. incognita</i> + <i>M. arenaria</i>	I1, I2 e A2	1,0. 1,0; 1,1. 1,2; 1,3	-	-	25%	-	-	-	-	2%	Tomate

Rm*: Mobilidade Relativa (mm)

(-): Não ocorre

Na Tanzânia foram analisadas 52 populações e foram identificadas cinco espécies e uma população atípica e seis perfis de esterase: *M. javanica*, EST J3; *M. incognita*, EST I2; *M. arenaria*, EST A2; *M. izalcoensis*, EST I4, *M. Sp2*, EST Sp2 e *M. hapla*, EST H1. No Distrito de Mkarunga foi observada a ocorrência de *M. javanica*, EST J3, em 90% das populações, as espécies ocorreram, isoladamente, ou em mistura com *M. incognita*, EST I2, essa espécie também foi observada ocorrendo em mistura com *M. arenaria*, EST A2, nas culturas de tomate, quiabo e cenoura. No distrito de Ilala foi observada na região de Donge, a ocorrência de *M. javanica*, EST J3 e *M. incognita*, EST I2; isoladamente nas culturas de pimentão e tomate. No arquipélago de Zanzibar foi observada a presença de *M. incognita*, EST I2, nas três regiões avaliadas, ocorrendo isoladamente em quiabeiro e tomateiro; na região de Fuoni ocorreu em mistura com *M. javanica*, EST J3, na cultura da cenoura; em Tindini ocorreu em mistura com *M. izalcoensis*, EST I4 em tomateiro; em Unguja Ukuu ainda foi observada a ocorrência de *M. javanica*, EST J3 e *M. arenaria*, EST A2, ocorrendo isoladamente ou em mistura nas culturas do quiabo e tomate. Em Mvomero foi observada a ocorrência isolada de *M. incognita*, EST I2, em todas as regiões analisadas, exceto em Miali, onde foi observada apenas *M. javanica*, EST J3; essa espécie também foi relatada em Henbeti, Dakawa e Msongozi. Em Hembeti foram encontradas misturas de *M. javanica* (EST J3) e *M. incognita* (EST I2). Em Msongozi foi encontrada uma população atípica com perfil de esterase ainda não estudado, *Meloidogyne* sp2, EST SP2 (Figura 2). No distrito de Mkinga foi observada a presença de *M. javanica*, EST J3, na região de Kwamsisi e *M. incognita*, EST I2 e *M. arenaria*, EST A2 na região de Pangani em tomateiro. Na cidade de Meru na região de Kianjai foram analisadas duas populações, uma foi mistura *M. izalcoensis* e *M. incognita* (EST I4 e EST I2), e outra uma mistura de *M. arenaria* e *M. incognita* (EST A2 e EST I2), ambas em Pimentão. No distrito de Kinondoni na região de Boko Kawe foi encontrada apenas *M. incognita*, EST I2 em pimenteira (Tabela 7).

Tabela 7. Ocorrência (%) de *Meloidogyne* spp. em distritos da Tanzânia, Embrapa Cenargen, 2016.

Espécies	Fenótipo de esterase	Rm.*	Distrito de Ilala	Arquipélago de Zanzibar	Distrito de Mvomero	Cidade de Meru	Distrito de Mkuranga	Distrito de Kinondoni	Distrito de Mkinga	Cidade de Mufindi	Total	Cultura
<i>M. javanica</i>	J3	1,0; 1,25; 1,4	50%	6%	38%	-	70%	-	33%	-	31%	Tomate, Quiabo e Cenoura
<i>M. incognita</i>	I2	1,0; 1,1	50%	41%	38%	-	-	100%	33%	50%	35%	Pimentão, Quiabo, Tomate e Espinafre
<i>M. arenaria</i>	A2	1,2; 1,3	-	12%	-	-	-	-	33%	-	6%	Quiabo e Pimentão
<i>M. sp.</i>	Sp 2	0,84; 1,04	-	-	8%	-	-	-	-	-	2%	Tomate
<i>M. izalcoensis</i> + <i>M. incognita</i>	I4 e I2	0,86; 0,96; 1,24; 1,30. 1,0; 1,1	-	6%	-	50%	-	-	-	-	4%	Tomate e Pimentão
<i>M. incognita</i> + <i>M. javanica</i>	I2 e J3	1,0; 1,1. 1,0; 1,25; 1,4	-	6%	8%	-	20%	-	-	-	8%	Quiabo, Tomate e Cenoura
<i>M. incognita</i> + <i>M. javanica</i> + <i>M. arenaria</i>	I2, J3 e A2	1,0; 1,1. 1,0; 1,25; 1,4. 1,2; 1,3	-	-	8%	-	-	-	-	-	2%	Tomate
<i>M. arenaria</i> + <i>M. incognita</i>	A2 e I2	1,2; 1,3. 1,0; 1,1	-	-	-	50%	10%	-	-	-	4%	Pimentão e Tomate
<i>M. izalcoensis</i> + <i>M. Incognita</i> + <i>M. hapla</i>	I4, I2 e H1	0,86; 0,96; 1,24; 1,30. 1,0; 1,1. 1; 28	-	-	-	-	-	-	-	50%	2%	Café
<i>M. izalcoensis</i> + <i>M. javanica</i>	I4 e J3	0,86; 0,96; 1,24; 1,30. 1,0; 1,25; 1,4	-	6%	-	-	-	-	-	-	2%	Tomate
<i>M. arenaria</i> + <i>M. javanica</i>	A2 e J3	1,2; 1,3. 1,0; 1,25; 1,4	-	24%	-	-	-	-	-	-	4%	Tomate

Rm*: Mobilidade Relativa (mm)

(-): Não ocorre

No total foram avaliadas populações provenientes de onze hospedeiras. Em amarantos foi encontrado apenas *M. incognita*, EST I2, no Benin. Em repolho foi detectada apenas *M. izalcoensis*, EST I4 no Benin. Na cenoura foram encontradas *M. incognita*, EST I2 e *M. javanica*, EST J3 no Benin e na Tanzânia. Na mandioca foi observada apenas *M. incognita*, EST I2, em Uganda. Em café foram encontradas *M. izalcoensis*, EST I4 e *M. javanica*, EST J3, na Tanzânia e no Quênia. Em berinjela foi registrada apenas *M. javanica*, EST J3, em Uganda. Na cultura do pimentão foi encontrada uma mistura de *M. arenaria*, EST A2, *M. javanica*, EST J3, e *M. incognita*, EST I1 e I2, uma mistura de *M. arenaria*, EST A2 e *M. incognita*, EST I2 e outra mistura de *M. arenaria*, EST A2 e *M. izalcoensis*, EST I4 em Uganda. Na sálvia roxa foi encontrada *M. izalcoensis*, EST I4, no Benin. No quiabo foi encontrada *M. arenaria*, EST A2, na Tanzânia; *M. incognita*, EST I2, no Benin e na Tanzânia; *M. javanica*, EST J3, na Tanzânia e mistura de *M. incognita* e *M. javanica*, EST I2 e J3 na Tanzânia. Na cultura do espinafre foi encontrada *M. incognita*, EST I2, na Tanzânia. Em tomateiro foi detectada *M. arenaria*, EST A2 ocorrendo isoladamente e em mistura com *M. javanica*, EST J3 e *M. incognita*, EST I1 e I2 em Uganda e na Tanzânia; *M. enterolobii*, EST E4, ocorreu isoladamente e em mistura com *M. incognita*, EST I2, na Nigéria; *M. arenaria*, EST A2, *M. enterolobii*, EST E4 e *M. izalcoensis*, EST I4, na Nigéria, Tanzânia; *M. javanica*, EST J2a ocorreu em mistura com *M. javanica*, EST J3 em Uganda; *M. javanica*, EST J2b foi ocorreu isoladamente ou em mistura com *M. javanica*, EST J3, em Uganda e no Quênia; *M. javanica*, EST J3, foi encontrada isoladamente ou em combinação com *M. izalcoensis*, EST I4 em Uganda e Tanzânia. Também foram encontradas duas populações com perfis isoenzimáticos atípicos (EST Sp1 e EST Sp2) no Quênia e Tanzânia (Tabela 8).

Todos os resultados encontrados detalhados no anexo 1 (Tabela 10).

Tabela 8. Ocorrência (%) de *Meloidogyne* spp. em diferentes culturas na Nigéria, Benin, Quênia, Tanzânia e Uganda. Embrapa Cenargen, 2016.

Espécie	Fenótipo de esterase	Rm (mm)	Amarantos	Repolho	Cenoura	Mandioca	Café	Berinjela	Sálvia roxa	Quiabo	Espinafre	Pimentão	Tomate
<i>M. arenaria</i>	A2	1,2; 1,3	-	-	-	-	-	-	-	18%	-	14%	15%
<i>M. enterolobii</i>	E4	0,75; 0,95	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4%
<i>M. incognita</i>	I2	1,0; 1,1	100%	-	33%	100%	-	-	-	45%	100%	43%	17%
<i>M. izalcoensis</i>	I4	0,86; 0,96; 1,24; 1,30	-	100%	-	-	33%	-	100%	-	-	-	-
<i>M. javanica</i>	J2a	1,0; 1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2%
<i>M. javanica</i>	J2b	1,0; 1,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2%
<i>M. javanica</i>	J3	1,0; 1,25; 1,4	-	-	33%	-	67%	100%	-	18%	-	-	37%
<i>M. sp</i>	Sp. 1	Não nitido	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1%
<i>M. sp</i>	Sp. 2	0,84; 1,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1%
<i>M. arenaria</i> + <i>M. javanica</i>	A2+J3	1,2; 1,3+ 1,0; 1,25; 1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3%
<i>M. arenaria</i> + <i>M. incognita</i> + <i>M. javanica</i>	A2+I1+I2+J3	1,2; 1,3+ 1,0+ 1,0; 1,1+ 1,0; 1,25; 1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14%	-
<i>M. arenaria</i> + <i>M. inconita</i>	A2+I2	1,2; 1,3+ 1,0; 1,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14%	1%
<i>M. incognita</i> + <i>M. javanica</i>	I1+J3	1,0+ 1,0; 1,25; 1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5%
<i>M. incognita</i> + <i>M. arenaria</i>	I1+I2+A2	1,0+ 1,0; 1,1+ 1,2; 1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1%
<i>M. incognita</i> + <i>M. Enterolobii</i>	I2+E4	1,0; 1,1+ 0,75; 0,95	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1%
<i>M. incognita</i> + <i>M. javanica</i>	I2+J3	1,0; 1,1+ 1,0; 1,25; 1,4	-	-	33%	-	-	-	-	18%	-	-	4%
<i>M. incognita</i> + <i>M. javanica</i> + <i>M. arenaria</i>	I2+J3+A2	1,0; 1,1+ 1,0; 1,25; 1,4+ 1,2; 1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1%
<i>M. izalcoensis</i> + <i>M. incognita</i>	I4+I2	0,86; 0,96; 1,24; 1,30+ 1,0; 1,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14%	1%
<i>M. izalcoensis</i> + <i>M. incognita</i> + <i>M. hapla</i>	I4+I2+H1	0,86; 0,96; 1,24; 1,30+ 1,0; 1,1+ 1,28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. izalcoensis</i> + <i>M. javanica</i>	I4+J3	0,86; 0,96; 1,24; 1,30+ 1,0; 1,25; 1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1%
<i>M. javanica</i>	J2a+J3	1,0; 1,4+ 1,0; 1,25; 1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1%
<i>M. javanica</i>	J2b+J3	1,0; 1,25+ 1,0; 1,25; 1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4%

Rm*: Mobilidade Relativa (mm)

(-): Não ocorre

3.2. Identificação de espécies de *Meloidogyne* por marcadores moleculares SCAR

De maneira geral os resultados dos marcadores SCAR-PCR confirmaram a identificação por eletroforese de isoenzimas e se caracterizaram como primers válidos para identificação de espécies de *Meloidogyne* da África e Brasil.

O método SCAR-PCR permitiu a diferenciação das espécies de *Meloidogyne* encontradas, através da amplificação de fragmentos específicos para populações de 1-4 de *M. izalcoensis* (670 pb) (Figura 3, Tabela 8), de *M. incognita* (399 pb), *M. enterolobii* (520 pb), *M. arenaria* (420 pb) e *M. javanica* (670 pb) (Figura 4, Tabela 8.). Os marcadores permitiram a identificação de todas as variações intraespecíficas encontradas em populações de *M. javanica*, com fenótipos isoenzimáticos distintos (J3, J2a, e J2b, Tabela 8). *Meloidogyne* sp.2, com fenótipos de esterase e morfologia próximos a *M. incognita* amplificou um fragmento de peso molecular de 399 pb, mostrando ser uma variante de *M. incognita*. No caso da outra espécie atípica, *Meloidogyne* sp. 1 ocorreu a amplificação de dois fragmentos: um com mesmo peso molecular de *M. javanica* e outro com mesmo peso de *M. arenaria* (Figura 4, Tabela 8), demonstrando ser uma espécie críptica com características a serem investigadas morfologicamente.

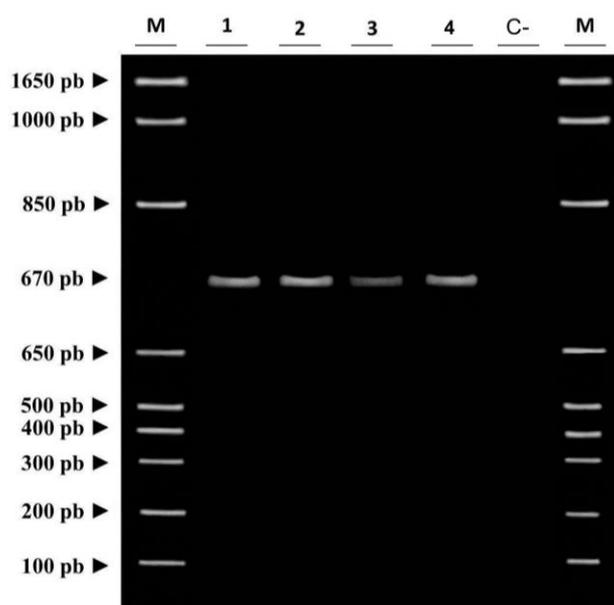


Figura 5. PCR-SCAR das populações de *Meloidogyne izalcoensis* (670 pb). (1) – População de El Salvador, (2) – População do Benin, (3) – População da Tanzânia, (4) – População do Quênia, Controle Negativo (C-), M: 1kb, marcador de peso molecular (Invitrogen), pb: pares de base.



Figura 6. Perfis de amplificação de DNA genômico de populações de *Meloidogyne* spp. 5-8: *M. incognita* (399 pb) (5 – população da região de Kilifi, Quênia; 6 – população de Boko Kawe, Tanzania; 7 – população de Pahou Ouidah, Benin; 8 – População de Londrina, Brasil). 9-10: *Meloidogyne* sp.2 (9 - População de Msongozi, Tanzânia; 10 – População de Marechal Cândido Rondon, Brasil). 11-17: *M. javanica* (670 pb) (11 – População de Londrina, Brasil; 12 – População da região de Taveta, Quênia; 13 – população de Mukono, Uganda; 14 – população de Oloitoktok, Quênia; 15 – população de Mukono, Nigéria; 16 – população de Brasília, Brasil; 17 – população do Brasil). 18-19: *M. arenaria* (420 pb) (18 – população de Mukno; Uganda, 19 – População do Brasil). 20-21: *M. enterolobii* (520 pb) (20 – população de Petrolina, Brasil; 21 - População do Estado de Oyo, Nigéria) 22: *Meloidogyne* sp.1. (22 – População de Taveta, Quênia). Dados representam SCAR-PCR simples. M: 1kb Marcador de peso molecular (Invitrogen). pb: pares de base, (-) controle negativo.

Tabela 9. Identificação de espécies de *Meloidogyne* da África e do Brasil, através da técnica de eletroforese de isoenzimas (fenótipos de esterase, EST) e da técnica de SCAR-PCR.

Nº	País	Localidade	Identificação		Altura da banda amplificada (Pb)
			EST	SCAR	
1	El salvador	-	<i>M. izarcoensis</i> (I4)	<i>M. izarcoensis</i>	670
2	Benin	Cotonou	<i>M. izarcoensis</i> (I4)	<i>M. izarcoensis</i>	670
3	Tanzânia	Tindini	<i>M. izarcoensis</i> (I4)	<i>M. izarcoensis</i>	670
4	Quênia	Kabete	<i>M. izarcoensis</i> (I4)	<i>M. izarcoensis</i>	670
5	Quênia	Lamu	<i>M. incognita</i> (I2)	<i>M. incognita</i>	399
6	Tanzânia	Kawe	<i>M. incognita</i> (I2)	<i>M. incognita</i>	399
7	Benin	Pahou Oiadah	<i>M. incognita</i> (I2)	<i>M. incognita</i>	399
8	Brasil	Londrina	<i>M. incognita</i> (I2)	<i>M. incognita</i>	399
9	Tanzânia	Msongozi	<i>M. sp. (Sp. 2)</i>	<i>M. incognita</i>	399
10	Brasil	Marechal Cândido Rondon	<i>M. sp. (Sp. 2)</i>	<i>M. incognita</i>	399
11	Brasil	Londrina	<i>M. javanica</i> (J3)	<i>M. javanica</i>	670
12	Quênia	Taveta	<i>M. javanica</i> (J3)	<i>M. javanica</i>	670
13	Uganda	Mukono	<i>M. javanica</i> (J2b)	<i>M. javanica</i>	670
14	Quênia	Oloitoktok	<i>M. javanica</i> (J2b)	<i>M. javanica</i>	670
15	Uganda	Luwero	<i>M. javanica</i> (J2a)	<i>M. javanica</i>	670
16	Brasil	Brasília	<i>M. javanica</i> (J2a)	<i>M. javanica</i>	670
17	Brasil	Casa Nova - PE	<i>M. javanica</i> (J2a)	<i>M. javanica</i>	670
18	Uganda	Wakiso	<i>M. arenaria</i> (A2)	<i>M. arenaria</i>	420
19	Brasil	Recife - PE	<i>M. arenaria</i> (A2)	<i>M. arenaria</i>	420
20	Brasil	Petrolina	<i>M. enterolobii</i> (E4)	<i>M. enterolobii</i>	520
21	Nigéria	Oyo	<i>M. enterolobii</i> (E4)	<i>M. enterolobii</i>	520
22	Quênia	Taveta	<i>M. sp. (Sp. 1)</i>	<i>M. javanica e M. arenaria</i>	670 e 420

4. DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram a ocorrência de meloidoginoses em áreas periurbanas de vários países da África. A ocorrência de espécies de *Meloidogyne* representa um risco real para produtividade nesses países.

Na Nigéria foi detectada a ocorrência de três espécies do nematoide das galhas, *M. javanica*, *M. incognita* e *M. enterolobii*, nas sete populações estudadas, com maior ocorrência de *M. enterolobii*, que foi encontrada em quatro das sete regiões, ocorrendo isoladamente e uma população misturada com *M. incognita*. *Meloidogyne javanica* já foi relatada na Nigéria por Adesiyan (1978) em inhame e por Babatola (1984) em arroz. Além de *M. javanica*, *M. incognita*; *M. arenaria* e *M. hapla* também já foram relatadas no país (CABI & EPPO 2002, 2002a, 2002b, 2003). Olowe (2004) realizou um levantamento em áreas de cultivo de feijão caupi em três estados Nigérianos e relatou a ocorrência de *M. incognita* (51,8%), *M. javanica* (44,1%) e *M. arenaria* (4,1%); também relatou a ocorrência da mistura das três espécies (4%) e *M. incognita* e *M. javanica* (37,1%), como também observado no presente estudo. Levantamento realizado em cultivos de abacaxi mostrou a ocorrência de *M. incognita* em 44% das amostras (Daramola *et al.*, 2013). Suleiman *et al.* (2015) relataram *M. incognita* e *M. javanica* nas culturas de alface, tomate, cebola, pimenta e repolho, com maior ocorrência de *M. incognita*. Todos esses estudos mostraram claramente que *M. incognita* e *M. javanica* têm ampla distribuição em território Nigérianos. Entretanto, neste estudo devido ao número reduzido de amostras, *M. incognita* foi encontrada em uma região das seis analisadas, ocorrendo isoladamente, e em outras duas regiões, ocorrendo em mistura com *M. enterolobii* e *M. javanica*, nas seis regiões em estudo. Em áreas periurbanas da Nigéria observou-se uma maior ocorrência de *M. enterolobii*. Relatos de *M. enterolobii* ainda não haviam sido feitos na Nigéria, porém sua ocorrência tem sido relatada em outros países da África Ocidental como Burquina Faso, Costa do Marfim, Senegal e Togo (Fargette, 1987; CABI & EPPO, 2014).

No Benin foram encontradas *M. incognita* e *M. izalcoensis*. Não há relatos anteriores da ocorrência destas espécies no país. Atualmente, levantamentos da ocorrência de fitonematoídes no Benin têm sido realizados; todos relataram a ocorrência de nematoídes do gênero *Meloidogyne* no país, entretanto, nesses estudos não há dados que possibilitem a identificação das espécies (Coyne *et al.*, 2006; Baimey *et al.*, 2009).

No Quênia foram detectadas três espécies do nematoide das galhas (*M. incognita*, *M. javanica* e *M. izalcoensis*), nas culturas do café e tomate, com maior ocorrência de *M. javanica*, EST J3. Estudos anteriores já demonstraram a ocorrência de *M. javanica* e *M.*

incognita no país, em cultivos de hortaliças e foram consideradas como as principais espécies responsáveis pela redução da produtividade. Além disso, *M. hapla* também tem sido relatada no país (Whitehead, 1969; Parlevliet, 1971; Kanyagia, 1983; CABI e EPPO, 2002b). Entretanto não há relatos anteriores da ocorrência de *M. izalcoensis* no país. *Meloidogyne hapla*, tem sido frequentemente encontrada em levantamentos no Quênia, porém, em áreas periurbanas a espécie não havia sido encontrada (Whitehead, 1969; Parlevliet, 1971; CABI & EPPO, 2002b). Outras espécies de *Meloidogyne*, não observadas nas áreas estudadas neste trabalho, já foram encontradas no país como *M. acronea* (Whitehead & Kariuki, 1960), *M. hapla* (CABI & EPPO, 2002b) e *M. kikuyensis* (De Grisse, 1960).

Na Tanzânia foi detectada a presença de *M. javanica*, *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. izalcoensis* e *M. hapla*, com maior ocorrência de *M. incognita* em seis dos oito distritos em estudo. Com exceção de *M. izalcoensis*, as demais espécies já foram relatadas em áreas de horticultura desse país (Ahmed, 1975; Swai *et al.*, 1996). Outros estudos, como os de Taylor *et al.* (1982) relataram a ocorrência de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* no país; Ebbels & Allen (1979) em estudos sobre a ocorrência de fungos e nematoides na Tanzânia relataram a presença de *M. javanica* em *Aeollanthus gamwelliae* Taylor e cenoura, amplamente distribuídos nesse país. De maneira geral, os estudos anteriormente realizados na Tanzânia têm demonstrado que *M. javanica* e *M. incognita* são as espécies com maior ocorrência, confirmando, os resultados deste estudo e demonstrando que o padrão de distribuição em áreas rurais tende a se repetir em áreas periurbanas do país. Outras espécies de *Meloidogyne* não identificadas neste trabalho, também têm sido relatadas ocorrendo na Tanzânia como *M. ethiopica*, cuja distribuição não é clara no continente africano (Whitehead, 1968, 1969; CABI & EPPO, 2013). Outras espécies de ocorrência restrita também têm sido relatadas na Tanzânia, entretanto, nenhuma foi encontrada neste trabalho, como *M. decalineata* Whitehead, 1968 e *M. africana* Whitehead, 1960. Este é o primeiro estudo que relata a ocorrência *M. izalcoensis* no país.

Em Uganda foram relatadas três espécies de *Meloidogyne*, com maior ocorrência de *M. javanica*, seguida por *M. arenaria* e por último *M. incognita*. Nas populações de *M. javanica* houve predominância do perfil EST J3, e nas de *M. incognita*, o perfil EST I2. Estudos da ocorrência de *Meloidogyne* spp. em Uganda, usando isoenzimas são inexistentes, entretanto, essas três espécies têm sido relatadas na África, ocorrendo em diversas culturas como mandioca (Bridge *et al.*, 1991; Coyne *et al.*, 2003), cenoura (Coyne *et al.*, 2003) e outras (CABI & EPPO, 2002, 2002a, 2003; Onkendi *et al.*, 2014;). *Meloidogyne hapla* amplamente distribuída em culturas no continente africano, já tendo sido relatada em crisântemo e café

(Whitehead, 1969) em outras culturas em Uganda (CABI & EPPO, 2002b). Esta espécie é comum em climas frios ou regiões de altitude (Eisenback & Triantaphyllou, 1991) e não foi encontrada nas populações provenientes das regiões periurbanas analisadas neste trabalho.

Em Uganda, a associação de *Meloidogyne* spp. com raízes e tubérculos foi relatada em diversas regiões do país em áreas rurais por Coyne *et al.* (2003). Esses autores demonstraram a ocorrência de *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* e *M. javanica* em mandioca, com maior ocorrência de *M. arenaria*. Neste estudo foram encontradas apenas *M. javanica* e *M. incognita*, em mandioca. *Meloidogyne arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* e *M. javanica* também têm sido relatadas no Quênia e na Tanzânia (Caveness, 1981). Também já foi relatada a ocorrência de *Meloidogyne* spp. em Moçambique e Malawi, em estudos realizados por Coyne (1994), na cultura de mandioca. Outras espécies de menor relevância também têm sido relatadas parasitando mandioca na África, como *M. chitwoodi* na África do Sul e Moçambique (Kleynhans *et al.*, 1996; Fourie *et al.*, 2001; Coyne *et al.*, 2006); *M. exigua* e *M. naasi* Franklin, 1965 em Moçambique (Coyne *et al.*, 2006). Espécies de *Meloidogyne* ocorrendo em mandioca também tem sido relatadas em outros países fora da África como no Brasil (Ponte *et al.*, 1980), Venezuela (Crozzoli & Hidalgo, 1992) e Estados Unidos (McSorley *et al.*, 1983).

Em berinjela, foi observada a presença de *M. javanica*, e sua ocorrência é frequentemente relatada na literatura sendo os nemotoides do gênero considerados os mais prejudiciais à cultura dentre os fitonematoides (Khan & Haider, 1991; Eddaoudi *et al.*, 1997; Boiteux & Charchar, 2006).

Em cenoura, verificou-se a ocorrência de *M. incognita*, EST I2, e *M. javanica*, EST J3. Os mesmos fenótipos foram observados nessa cultura em estudos no Brasil (Carneiro *et al.*, 1995). *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* foram ainda relatadas em diversos estudos como os de Gautam *et al.*, (2014) na Índia e Knight (1997) na Nova Zelândia. Em outros estudos ocorreram outras espécies na cultura, como *M. arenaria*, *M. hapla* e *M. naasi*, nenhuma dessas encontradas na cenoura neste trabalho (Clarck, 1963; Harrison, 1976; Knight, 1997).

Na cultura do espinafre foi observada a ocorrência de *M. incognita*. Diversos estudos têm relatado a ocorrência desse nematoide nessa cultura, em diferentes localidades do mundo, como, por exemplo, estudos de Tarjan (1953) relataram a ocorrência em Israel, Castillo & Jiménez-Días (2003) no sul da Espanha, Anwar *et al.* (2007) no Paquistão. Na África, a ocorrência também já foi relatada por Kwerepe & Labuschagne (2004) e CABI & EPPO (2002).

Neste estudo foi observada a ocorrência de *M. arenaria*, EST A2, ocorrendo em *Amaranthus* spp. Em diversas áreas de cultivos de hortaliças, amarantos é considerada uma planta daninha e, do ponto de vista fitopatológico é considerada como um reservatório de nematoides das galhas, em cultivos de hortaliças, colocando em risco a produção. Diversas espécies de *Meloidogyne* têm sido relatadas em *Amaranthus* (Tedford & Fortnum, 1988; Quénéhervé, 1995).

No quiabeiro foram encontradas três espécies de *Meloidogyne*: *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. incognita*. A cultura é considerada fundamental para segurança alimentar em países em desenvolvimento e é considerada uma excelente fonte de nutrição e de fácil cultivo em áreas rurais e periurbanas em países tropicais. Estudos demonstraram que *Meloidogyne* spp. são responsáveis por grandes perdas de produção (Kumar *et al.*, 2010). *Meloidogyne arenaria*, *M. javanica* e *M. incognita* já foram relatadas anteriormente em quiabeiro no continente africano na Líbia por Lamberti *et al.*, (1988), em Madagascar por Luc (1968), na África ocidental e central por Kumar *et al.* (2010).

No cafeeiro foi detectada *M. izarcoensis*, como já registrada por outros autores (Carneiro *et al.*, 2005; Villain *et al.*, 2013). Também observou-se a ocorrência de *M. javanica* nessa cultura. Esta espécie é relatada em diversos estudos em áreas tropicais (Carneiro *et al.*, 2004; Lima *et al.*, 2005; Castro *et al.*, 2008), embora essa espécie não se reproduza no cafeeiro (Carneiro & Cofcewicz, 2008), concluímos que as populações de *M. javanica* encontradas nas regiões de produção de café possam estar sobrevivendo nas regiões, em hospedeiras alternativas, como plantas daninhas e outras, que foram coletadas juntos as populações presentes nos cafeeiros. Entretanto, as principais espécies de *Meloidogyne* frequentemente encontradas no cafeeiro (*M. exigua*, *M. incognita* e *M. paranaensis*) não foram encontradas neste trabalho, mesmo no Quênia onde estudos demonstram elevada abundância de *Meloidogyne* spp. em cultivos de café (Nzesya *et al.*, 2014).

Em sálvia foi encontrada apenas *M. izarcoensis*; não havendo relatos anteriores da ocorrência dessa espécie de nematoide nessa cultura.

Nos cinco países africanos em estudo foram encontradas *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. izarcoensis*, *M. hapla* e *M. enterolobii*. Na África já foram relatadas cerca de 22 espécies de *Meloidogyne*, dessas *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria* são consideradas as principais no continente e nos trópicos (Moens *et al.*, 2009). *Meloidogyne enterolobii* é considerada uma espécie emergente no continente, junto com *M. chitwoodi*, *M. falax* e *M. minor* Karssen *et al.*, 2004. Dentre todas, *M. javanica* e *M. incognita* são as espécies dominantes no continente africano (IITA, 1981; De Waele & Elsen, 2007).

Meloidogyne javanica, *M. incognita* e *M. arenaria* tiveram maior frequência nas populações analisadas, sendo *M. javanica*, a espécie com maior frequência neste estudo, mesmo não tendo sido relatada no Benin, onde poucas amostras foram analisadas, ocorreu apenas em mistura com *M. incognita*, EST I1, na Nigéria. A alta percentagem de ocorrência de *M. javanica* neste estudo confirma estudos anteriores como os realizados por Whitehead & Kariuki (1960) e Kanyagia (1988) no Quênia, Ebbels & Allen (1979) e Swai *et al.* (1996) na Tanzânia, Dabaj & Jenser (1987) na Líbia, Olowe (2004), Daramola *et al.* (2013) e Suleiman *et al.*, (2015) na Nigéria e, Fargette (1987) em países do oeste africano. Nas populações de *M. javanica* tanto isoladamente quando em mistura foram observados com maior frequência os perfis EST J3, e os perfis J2a e J2b com menor frequência, demonstrando a ocorrência de variação intraespecífica nas populações. Estudos de Fargette (1987) em países da África ocidental registraram a ocorrência do fenótipo J3 de *M. javanica*, associada a plantas de cinco famílias botânicas e, ainda relata a ocorrência em misturas com *M. incognita* (EST I2), conforme foi observada neste estudo, no Quênia, Uganda e Tanzânia. Essa espécie também foi relatada em mistura com *M. enterolobii* (EST E4), *M. arenaria* (EST A2) e com outras espécies do nematoide das galhas, na maioria dos países neste estudo. Verhaeven (2014) na Tanzânia detectou apenas o perfil EST J3 como o único fenótipo de *M. javanica* nas culturas do quiabeiro, mostarda, tomate e repolho. Nesse trabalho também foi relatada a ocorrência de mistura de *M. javanica* com *M. incognita*, EST I2, no Quênia, Uganda e Tanzânia. De modo semelhante, Fargette & Braaksma (1990) analisaram populações de *Meloidogyne* spp. na Costa do Marfim e encontraram *M. javanica* na maioria das amostras analisadas sendo EST J3 o único perfil. Os autores relataram a ocorrência desse perfil em mistura com outras espécies (*M. arenaria*, EST A2 e *M. incognita* EST I2). Estudos anteriores na África demonstraram que *M. javanica* é amplamente distribuída no continente, com EST J3 como o único perfil isoenzimático descrito. Os resultados deste trabalho confirmam os anteriores, e demonstram que em áreas periurbanas e rurais na África o fenótipo EST J3 de *M. javanica*, ocorre com maior frequência que os demais. Estudos realizados em outras regiões tropicais e subtropicais, fora do continente africano, também confirmam os resultados deste trabalho, como os estudos realizados em áreas de cerrado conservado no Distrito Federal, na Mata Atlântica e em análises de diversas populações de várias regiões do Brasil, ou seja, *M. javanica* tem sido relatada como a espécie de *Meloidogyne* com maior frequência (Carneiro *et al.*, 1996; Lima *et al.*, 2005; Silva, 2012). O mesmo também foi observado em outros estudos como os de Esfahani (2009) na Índia, Tzortzakakis *et al.*, (2005) na Grécia e de Trudgill *et al.* (2000) na ilha de Creta na Grécia, Burquina Faso, Equador, Malawi, Senegal e Tanzânia;

todos sem exceção demonstram que o perfil EST J3 é o mais frequente em populações de *M. javanica*, e que o aparecimento de perfis como J2a e J2b são variações intraespecíficas, conforme sugere Silva (2012). Estudos demonstraram que em ambientes tropicais e subtropicais, *M. javanica* é uma espécie amplamente distribuída e de alta ocorrência em regiões com estações secas bem definidas, com menos de 5 mm de precipitação por mês, durante três ou mais meses (Eisenback & Triantaphyllou, 1991). Os resultados deste estudo sugerem que o mesmo ocorreu em áreas periurbanas de regiões tropicais de países da África.

Meloidogyne incognita é a segunda espécie com maior ocorrência neste estudo, tendo sido relatada em todos os países analisados, ocorrendo isoladamente e em mistura com outras espécies, sendo que o perfil de esterase, EST I2, é o que ocorre com maior frequência. Relatos de *M. incognita* na África demonstraram que a espécie é amplamente distribuída no continente além de sua ocorrência já ter sido registrada na Nigéria, Uganda, Tanzânia e Quênia (Adesiyon & Odihirin, 1978; Kanygia, 1988; CABI & EPPO, 2002). Essa espécie também tem sido relatada em diversos países do continente, como na Argélia, Angola, Burquina Faso, República Democrática do Congo, Gâmbia, Gana, Guiné, Egito, Etiópia, Madagascar, Malawi, Mauritânia, Marrocos, Moçambique, Seicheles, nas Ilhas de Reunion e outros (Ibrahim *et al.*, 1972; Oever & Mangane, 1992) em diversas culturas. Os estudos realizados na Libéria relatando a ocorrência em quiabo (Lamberti *et al.*, 1988; CABI & EPPO, 2002), na faixa costeira da Líbia, ocorrendo em feijão, tomate, fruteiras, plantas ornamentais e outras (Khan & Dabaj, 1980; CABBI & EPPO, 2002; Dabaj & Jenser, 1987). No Níger, levantamento em áreas de arroz, algodão e tabaco, *M. incognita* foi relatada ocorrendo em 86% das populações analisadas (Sikora *et al.*, 1988; CABI & EPPO, 2002). Na Nigéria, em áreas de cultivo de inhame ocorreu *M. incognita* em infestação de 10 – 90% da área (Adesiyon & Odihirin, 1978; CABBI & EPPO, 2002). Infelizmente, esses trabalhos não relatam o perfil de esterase dessas populações. No Benin não existem relatos anteriores da ocorrência dessa espécie no país, apesar de relatada em países vizinhos como Níger, Togo e Nigéria (CABI & EPPO, 2002). Estudos na Nigéria, em áreas de cultivo feijão caupi realizado por Olowe (2004), demonstraram a ocorrência da espécie naquele país, demonstrando-a como a mais frequente na cultura do caupi, ocorrendo em 51,8% das áreas analisadas, também foi relatada a ocorrência de *M. incognita*, em mistura com *M. javanica* (37%) e as duas em conjunto com *M. arenaria* (4%), conforme observado no presente estudo no Quênia, Nigéria, Uganda e Tanzânia. Daramola *et al.* (2013) realizando estudos na Nigéria também observaram *M. incognita* ocorrendo com maior frequência (44%) em levantamento em áreas de cultivos de abacaxi; o mesmo também foi observado por Suleiman *et al.*, (2015), em áreas

de cultivo de hortaliças. Trudgill *et al.* (2000), estudando cultivos tropicais analisou populações da ilha de Creta na Grécia, Burquina Faso, Trindade e Tobago, Malawi, Senegal, Tanzânia e Equador e verificaram que *M. incognita* foi a espécie com maior ocorrência. Estes estudos demonstram a ampla ocorrência de *M. incognita* no continente, concordando com os resultados do presente estudo encontrados na Tanzânia, Benin e Quênia, no entanto, diferem dos observados em Uganda e na Nigéria. Outros estudos corroboram o observado em Uganda (Fargette, 1987; Olowe, 2004; Daramola *et al.*, 2013; Suleiman *et al.*, 2015). Outros estudos realizados fora do continente africano, confirmam os dados observados neste trabalho, como os de Quénéhervé *et al.* (2011), analisando populações da ilha francesa da Martinique, os autores observaram *M. incognita*, EST I2, ocorrendo isoladamente ou em mistura com *M. javanica*, EST J3; *M. enterolobii*, EST E4 e *M. arenaria*, EST A2, em culturas de repolho, quiabo e tomate conforme o que foi observado em 6% das populações analisadas de Uganda, Tanzânia, Quênia e Nigéria. Estudos realizados por Carneiro *et al.* (1996) analisaram noventa populações de diversas regiões do Brasil e relataram a ocorrência do fenótipo EST I2 de *M. incognita* em várias culturas: tomate, cenoura pepino, café, soja, algodão, entre outros. Fargette (1987), estudando a ocorrência de fenótipos de esterase em populações da África ocidental observou a ocorrência do fenótipo EST I2 de *M. incognita* com maior frequência em populações isoladas e em mistura, o mesmo padrão também foi observado neste estudo em países da África oriental (Tanzânia e Quênia) e na África ocidental (Benin); o fenótipo EST I2 foi também observado ocorrendo em mistura com EST J3 de *M. javanica*, EST A2 de *M. arenaria*, EST E4 de *M. enterolobii*, semelhante ao observado no Quênia, Tanzânia, Uganda e Nigéria. O Fenótipo EST I2, também foi relatado na Costa do Marfim, mas sempre ocorrendo em mistura com outras espécies (Fargette & Braaksma, 1990). O fenótipo EST I2 também foi detectado ocorrendo na Tanzânia em estudos de Verhaeven (2014). Trabalhos anteriores no continente africano relatam apenas a ocorrência do Fenótipo, EST I2 de *M. incognita*, entretanto, estudos em outras regiões tropicais do globo demonstram a ocorrência do fenótipo EST I1, mais sempre em menor frequência que o fenótipo EST I2. Portanto, este é o primeiro relato do fenótipo EST I1 no continente africano.

Meloidogyne arenaria foi encontrada apenas em Uganda e na Tanzânia, ocorrendo o único perfil de esterase (EST A2). Apesar de ter sido observada apenas nesses países, estudos anteriores demonstram a ocorrência desta espécie em diversas localidades do continente, como nos estudos de Olowe (2004) e Van Wyk (1985), que detectaram as espécies na Nigéria e na África do Sul, isoladamente, ou em mistura com *M. incognita* e *M. javanica*. A ocorrência dessa espécie tem sido relatada na maior parte do continente, mas em todos esses

estudos a frequência de *M. arenaria* é sempre muito pequena, quando comparada a *M. javanica* e *M. incognita* (CABI & EEPO, 2002b) conforme observado no presente estudo. Fargette (1987), também observou a ocorrência de *M. arenaria* na África ocidental, tendo sido detectado apenas o fenótipo de esterase EST A2, ocorrendo isoladamente (16,3%) e, em mistura com *M. incognita*, EST I2. Outros fenótipos de *M. arenaria*, EST A1 e EST A3 não foram encontrados neste trabalho, pois são mais raros segundo Esbenshade & Triantaphyllou (1985).

Todos esses estudos apontaram que *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria* são as espécies com maior ocorrência no continente africano e, em áreas tropicais do mundo. Também demonstram que ao longo dos anos a distribuição e frequência no continente africano pouco se alteraram. Sugere-se que os padrões de ocorrência e distribuição encontrados em áreas rurais e de conservação tendem a se repetir em áreas periurbanas, conforme mencionado anteriormente.

Meloidogyne enterolobii foi observada apenas na Nigéria e, ao contrário do observado nos demais países foi a espécie mais frequente nas populações analisadas, ocorrendo isoladamente, ou em mistura com *M. incognita*, EST I2. A espécie já havia sido relatada no continente, mas não na Nigéria (CABI & EEPO, 2014). Fargette (1987) detectou o fenótipo E4 de *M. enterolobii*, em levantamento na África ocidental. A espécie ainda havia sido relatada em Burkina Faso, Costa do Marfim, Malawi, Senegal, África do Sul e Togo (CABI & EEPO, 2014) e, anteriormente, relatada no Senegal, África do Sul, sendo identificada como *M. mayaguensis* (Duponnois *et al.*, 1995; Willers, 1997; CABI e EEPO, 2000). Estudos de Fargette (1987) na África ocidental relataram a ocorrência de fenótipo EST E4 aparecendo isoladamente ou em mistura com fenótipo EST I2 de *M. incognita*, conforme observado na Nigéria neste estudo.

Meloidogyne izalcoensis foi relatada ocorrendo no Quênia, Benin e na Tanzânia nas culturas de sálvia roxa, repolho, café e tomate. Não há relatos anteriores da ocorrência dessa espécie no continente africano. Relatos da ocorrência dessa espécie são raros em todo mundo, sobretudo por que ela foi descrita por Carneiro *et al.* (2005) na região do vulcão Izalco, em El Salvador, ocorrendo em café; sua ocorrência naquele país foi novamente observada por Villain *et al.*, (2013). No estudo de gama de hospedeiras, a espécie multiplicou-se bem em tomateiro cv. Rutgers, tabaco cv. NC95, pimentão California Wonder, melancia cv. Charleston Gray; e não reproduziu-se em algodoeiro Deltapine 61 e amendoim Florunner (Carneiro *et al.*, 2005).

Meloidogyne hapla, neste trabalho foi encontrada apenas na Tanzânia, ocorrendo em café em mistura com *M. incognita* e *M. izalcoensis*, porém estudos realizados no continente africano demonstram que *M. hapla* é uma espécie amplamente distribuída no continente em diversas culturas; no Quênia já foi relatada ocorrendo em hortaliças (Kanyagia, 1979), crisântemo (Parlevliet, 1971), café (Whitehead, 1969) e outras plantas; na Tanzânia esta espécie também já havia sido relatada (Swai *et al.*, 1996; CABI & EPPO, 2002b) e, em outros países da África, como Argélia, Egito, Marrocos, Nigéria, Costa do Marfim, Malawi, Uganda e Etiópia (CABI & EPPO, 2002b; Meressa *et al.*, 2014). Diversos estudos no continente africano têm relatado a ocorrência de *M. hapla* junto com *M. incognita*. Outros estudos demonstraram a espécie também ocorrendo em mistura com *M. arenaria* e *M. javanica* (Whitehead & Kariuki, 1960; Kanyagia, 1979; Swai *et al.*, 1996).

Duas populações atípicas foram identificadas, uma no Quênia (*Meloidogyne* sp.1) e outra na Tanzânia (*Meloidogyne* sp.2). *Meloidogyne* sp.1 apresenta um fenótipo de esterase atípico e nunca relatado na literatura. *Meloidogyne* sp.2, encontrada em tomateiro na Tanzânia, apresenta fenótipo de esterase próximo a *M. incognita* (Est S2) já descrito por Santos *et al.* (2012). Araújo Filho (2012) encontrou o mesmo fenótipo de esterase no estado do Paraná, no Brasil, no município de Marechal Cândido Rondon, na região de Porto Mendes, parasitando plantas de fumo, cultivar Bravo 702. Neste estudo foi avaliada a configuração da região perineal e a morfologia/morfometria da população africana. A análise da região perineal demonstrou semelhança com a região perineal de fêmeas de *M. incognita*. Na análise morfométrica e o dendrograma gerado demonstraram alta similaridade do nematoide da população brasileira com *M. incognita*. Neste mesmo trabalho, também foi sequenciada parcialmente a região 18S-ITS1-5,8S dessa população. O resultado do sequenciamento foi um fragmento de 420pb, que comparado a outras sequências do GenBank demonstrou 99% de proximidade com o acesso JQ405212.1 de um isolado de *M. incognita* da China. Os estudos de Araújo Filho (2012) sugerem que populações com fenótipo EST Sp2 sejam uma variante de *M. incognita*, confirmando os resultados já publicados por Santos *et al.* (2012).

Os resultados da aplicação de marcadores SCAR confirmaram o sugerido no parágrafo anterior, que a população africana identificada como *Meloidogyne* sp.2 trata-se de *M. incognita*, já que ambas as populações, tanto a brasileira quanto a africana amplificam com o marcador espécie-específico descrito para *M. incognita* (Randig *et al.*, 2002). Ao contrário com o ocorrido com *Meloidogyne* sp.2, a população atípica Est M.sp.1, com fenótipo inédito na literatura, amplificou no SCAR como uma mistura de *M. javanica* e *M. arenaria*. Seria incorreto afirmar que se trata dessas espécies, já que o fenótipo de esterase foi atípico e não

foi devidamente correlacionado com as espécies acima, sendo recomendado mais estudos morfológicos e morfométricos para melhor caracterização dessa população.

Os primers específicos (Fjav, Rjav e Far, Rar) já haviam sido testados anteriormente por Zijlstra *et al.* (2000), para 33 isolados pertencentes a 7 espécies de *Meloidogyne*, e por Meng *et al.* (2004), para 42 isolados pertencentes a 5 espécies de *Meloidogyne*, confirmando a sua eficiência para as populações testadas. Wishart *et al.* (2002) e Tzortzakakis *et al.* (2005) também testaram com sucesso os primers Fjav e Rjav, em reação ao DNA extraído a partir de fêmeas. No entanto, os primers Far e Rar, testados por Zijlstra *et al.* (2000), Meng *et al.* (2004), Adam *et al.* (2007), Wishart *et al.* (2002) e Tzotzakakis *et al.* (2005), não amplificaram todas as populações de *M. arenaria* testadas, além de não permitir a diferenciação de *M. arenaria* e *M. morocciensis*, demonstrando que a técnica de eletroforese ainda é a técnica mais recomendada no diagnóstico de espécies de *Meloidogyne* (Carneiro *et al.*, 2008a Silva, 2012).

Os primers utilizados neste estudo (Rjav e Fjav, Far e Rar e inc-K14F e inc-K14R) já haviam sido testados anteriormente, e se mostraram eficientes na identificação de *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. incognita*, em trabalho realizado por Adam *et al.* (2007), com populações originárias da França, Grécia e Líbia. Os resultados obtidos neste trabalho confirmam a validade dos marcadores moleculares tipo SCAR na identificação de *M. izalcoensis*, *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. enterolobii*, encontradas em áreas periurbanas da África.

O ocorrido com as populações de *Meloidogyne* sp.1 e *Meloidogyne* sp.2, demonstraram a necessidade complementar de mais de uma técnica de diagnóstico para identificar espécies atípicas de *Meloidogyne*. A técnica SCAR-PCR se reafirma como uma boa ferramenta na identificação molecular de *Meloidogyne* spp., entretanto, ainda apresenta limitações, devendo ser utilizada com cautela. Além disto, o número de *primers* espécie-específicos até então desenvolvidos para *Meloidogyne* spp. são para poucas espécies (Blok & Powers, 2009).

5. CONCLUSÕES

- ✓ *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. izalcoensis* e *M. enterolobii* são espécies que ocorrem associadas à horticultura em áreas periurbanas da África subsaariana;
- ✓ Trata-se do primeiro relato de *Meloidogyne izalcoensis* no continente africano;
- ✓ Sálvia rocha, pimentão e repolho são novas hospedeiras de *M. izalcoensis*;
- ✓ Trata-se do primeiro relato de *Meloidogyne enterolobii* na Nigéria;
- ✓ Trata-se do primeiro relato de *Meloidogyne incognita* no Benin;
- ✓ *Meloidogyne javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria* são as espécies do nematoide das galhas com maior ocorrência em áreas periurbanas da África subsaariana;
- ✓ O fenótipo EST J3 ocorre com maior frequência que outros fenótipos de esterase de *M. javanica* em áreas periurbanas da África subsaariana;
- ✓ O fenótipo EST J2a e J2b também estão presentes no continente africano;
- ✓ O fenótipo EST I2 de *M. incognita* é mais frequente nas áreas periurbanas da África subsaariana que o fenótipo EST I1;
- ✓ Trata-se do primeiro do Relato do fenótipo EST I1 de *M. incognita* no continente africano;
- ✓ O fenótipo EST A2 de *M. arenaria* foi o único fenótipo encontrado em áreas periurbanas da África subsaariana;
- ✓ *Meloidogyne* sp.1 é uma população atípica com perfil de esterase desconhecido, e nos testes moleculares amplifica para mais de um marcador, considerada uma população atípica, sendo indicados estudos morfológicos aprofundados;
- ✓ *Meloidogyne* sp.2 é uma variante de *M. incognita*;
- ✓ O fenótipo EST sp.2 é um novo fenótipo de esterase para a espécie *Meloidogyne incognita*;
- ✓ Os marcadores SCAR testados confirmam a identificação realizada por eletroforese dos fenótipos conhecidos;
- ✓ Os marcadores moleculares SCAR são válidos para identificação de populações africanas de *Meloidogyne* spp., que foram identificadas.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adam, M.A.M.; Phillips, M.S.; Blok, V.C. 2007. Molecular diagnostic Key for identification of single juveniles of seven common and economically important species of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.). *Plant pathology* 56: 190-197.
- Adesiyun, S.O. & Odihirin, R.A. 1978. Root Knot nematodes as pests of yams (*Dioscorea* spp.) in southern Nigeria. *Nematologica* 24 (1): 132-134.
- Ahmed, N.R. 1975. Outbreaks and new records. Nematodes attacking vegetable crops. *FAO Plant Protection* 23: 192.
- Akoroda, M.O.; Aikpokpodion, P.; Aliyu, T.O.; Fabunmi, T.O.; Fatunbi, A.O. & Olofinji, E.B. 2000. Holistic sweet potato breeding and selection schemes: clonal trials in southwest Nigeria. *Proceedings 5th African potato conference*. P. 61-67.
- Allen, A. 2003. Environmental planning and management of the periurban interface: Perspectives on an emerging field. *Environmental Planning and Management* 15(1): 135-147.
- Allassembaye, D. 1994. Peri-urban growth in a third world city: the case of the western suburbs of Brazzaville. 9. Congo: Union for African Population Studies. 31pp.
- Antrop, M. 2005. Why landscapes of the past are important for the future. *Landscape and Urban Planning* 70: 21-34.
- Anwar, S.A.; Zia, A.; Hussain, M. & Kamran, M. 2007. Host suitability of selected plants to *Meloidogyne incognita* in the Punjab, Pakistan. *International Journal of Nematology* 17 (2): 144-150
- Araujo Filho, J.V. 2012. Meloidoginoses da cultura do tabaco: identificação de espécies, caracterização de isolados e reação de genótipos de *Nicotiana* spp. a *Meloidogyne enterolobii*. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, Brasil.
- Arim, O.J.; Waceke, J.W.; Wando, S.W. & Kimenju, J.W. 2006. Effects of *Canavalia ensiformis* and *Mucuna pruriens* intercrops on *Pratylenchus zae* damage and yield of maize in substance agriculture. *Plant soil* 284: 243-251.
- Asare-Bediako, E.; Showemimo, F.A.; Opoku-Asima, Y. 2007. Microorganisms associated with rot of minisettes of white yam (*Dioscorea rotundata* Poir). *Research in Microbiology* 2: 116-117.
- Babatola, J.O. 1984. Rice nematode problems in Nigeria: their occurrence, distribution and pathogenesis. *Tropical Pest Management* 30 (3): 256-265.

- Baffes, J. 2002. Tanzania's cotton sector: constraints and challenges in a global environment. Africa Region Working Paper Series No. 42, World Bank Group. p. 42.
- Bafokuzara, N. 1996. Incidence of different nematodes on vegetable and fruit crops and preliminary assessment of yield loss due to *Meloidogyne* species in Uganda. *Nematologia Brasileira* 20:32–43.
- Bagamba, F.; Senyonga, J.W.; Tushemereirwe, W.K. & Gold, C.S. 1999. Performance and profitability of the banana subsector in Uganda farming systems. *In: proceedings of International Symposium – Bananas and Food Security, Doula, Cameroon, 10-14 november 1998, INIBAP, Montpellier, France, p. 729-740.*
- Baijukya, F.P. & Steenhuijsen, P.B. 1998. Nutrient balances and their consequences in the banana-based land use systems of Bukoba District, Northwest Tanzania. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 71: 147-158
- Baimey, H.; Coyne, D.; Dagbenonbakin, G. & James, B. 2009. Plant-parasitic nematodes associated with vegetable crops in Benin: relationship with soil physic-chemical properties. *Nematologia Mediterranea* 37: 227-236.
- Bekunda, M. 1999. Farmer's responses to soil fertility decline in banana based cropping systems of Uganda. *Managing Africa's soils. Working papers series N° 04. In: www.iied.org. consultado em: 08 de janeiro de 2016.*
- Bergé, J. & Dalmasso, A. 1975. Caracteristiques biochimiques de quelques population de *Meloidogyne hapla* et *Meloidogyne* spp. *Cahiers de l'Office de la Recherche Scientifique et Technique Outremer Série Biologie* 10: 263-271.
- Birchfield, W. 1962. Host–parasite relations of *Rotylenchulus reniformis* on *Gossypium hirsutum*. *Phytopathology* 52:862–865.
- Blair, M.W.; Gonzalez, L.F.; Kimani P.M. & Butare, L. 2010. Genetic diversity, inter-gene pool introgression and nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) from Central Africa. *Theoretical and Applied Genetics* 121:237–248.
- Blok, V.C.; Philips, M.S.; McNicol, J.W. & Fargette, M. 1997. Genetic variation in tropical *Meloidogyne* spp. as shown by RAPDs. *Fudamental and Applied Nematology* 20: 127-133.
- Blok, V.C. & Powers, O. 2009. Biochemical and molecular identification. *In: Perry, R.; Moens, M.; Starr, J.L. (Eds). Root-knot nematodes. Cambridge. Estados unidos. CABI international. p. 98-118.*
- Boiteux, L.S. & Charchar, J.M. Gentic resistance to root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) in eggplant (*Solanun melongena*). *Plant Breending* 115 (3): 198-200.

- Bridge, J.; Otim-nape, W. & Namaganda, J. 1991. The root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, causing damage to cassava in Uganda. *African-Asian Journal of Nematology* 1 (1): 116-117.
- Bridge, J. Nematodes. 1992. *In*: Cotton Diseases, ed. by Hillocks RJ. CAB International, Wallingford, Oxon, UK, pp.331–353.
- Bridge, J. 1995. Plant nematodes of different crops and cropping systems in Africa. *South African Nematology Symposium*.
- Bridge, J. 1995a. Imported and indigenous plant nematodes of different crops and cropping systems in Africa. 12th Symp Nematol Soc Afr, Kruger gate, South Africa.
- Bridge, J. 1996. Nematode management in sustainable and subsistence agriculture. *Annual Review Phytopathology* 34:201–255.
- Bridge, J.; Coyne, D.; Kwoseh, C.K. 2005. Nematode parasites of tropical root and tuber crops. *In*: Luc, M.; Sikora, R.A.; Bridge J. *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. CAB International, Wallingford, Oxon, UK, p.221–258.
- CABI & EPPO. 2000. *Meloidogyne mayaguensis* [distribution map]. *Distribution Maps of Plant Diseases*. Wallingford, UK: CAB international: Map n°. 804
- CABI & EPPO. 2002. *Meloidogyne incognita* [distribution map]. *Distribution Maps of Plant Diseases*. Wallingford, UK: CAB international: Map n°. 854.
- CABI & EPPO. 2002a. *Meloidogyne javanica* [distribution map]. *Distribution Maps of Plant Diseases*. Wallingford, UK: CAB international: Map n°. 855.
- CABI & EPPO. 2002b. *Meloidogyne hapla* [distribution map]. *Distribution Maps of Plant Diseases*. Wallingford, UK: CAB international: Map n°. 853.
- CABI & EPPO. 2003. *Meloidogyne arenaria* [distribution map]. *Distribution Maps of Plant Diseases*. Wallingford, UK: CAB international: Map n°. 900.
- CABI & EPPO. 2005. *Meloidogyne ethiopica* [distribution map]. *Distribution Maps of Plant Diseases*. Wallingford, UK: CAB international: Map n°. 962
- CABI & EPPO. 2013. *Meloidogyne ethiopica* [distribution map]. *Distribution Maps of Plant Diseases* 2nd ed. Wallingford, UK: CAB international: Map n°. 804.
- CABI & EPPO. 2014. *Meloidogyne enterolobii* [distribution map]. *Distribution Maps of Plant Diseases* 2nd ed. Wallingford, UK: CAB international: Map n°. 962.
- Cadet, P. & Spaull, V.W. 2005. Nematode parasites of sugarcane. *In*: Luc, M.; Sikora, R.A. & Bridge, J. *Plant parasitic nematodes in tropical and subtropical agriculture*. CAB International, Wallingford, Oxon, UK. p. 645-674.

- Campos, V.P. & Villain, L. 2005. Nematode parasites of coffee and cocoa. *In*: Luc, M.; Sikora, R.A. & Bridge, J. Plant parasitic nematodes in tropical and subtropical agriculture. CAB International, Wallingford, Oxon, UK. p. 529-580.
- Carneiro, R. M.D.G.; Carneiro, R.G.; Abrantes, M.O.; Santos, M.S.N.A & Almeida, M.R. 1996. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. *Journal of Nematology* 28: 177-189.
- Carneiro, R.M.D.G.; Almeida, M.R. & Carneiro, R. 1996a. Enzymes phenotypes of Brazilian populations of *Meloidogyne* spp. *Fundamental and Applied nematology* 19 (6): 555-560.
- Carneiro, R.M.D.G.; Almeida, M.R.A. & Quénhervé, P. 2000. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* spp. populations. *Nematology* 2: 645-654.
- Carneiro, R.M.D.C & Almeida M.R.A. 2001. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. *Nematologia Brasileira* 25(1): 35-44.
- Carneiro, R.M.D.G; Tigano, M.D.; Randig, O.; Almeida, M.R.A. & Sarah, J.L. 2004. Identification and genetic diversity of *Meloidogyne* spp. (Tylenchida: Meloidogynidae) on coffee from Brazil, Central America and Hawaii. *Nematology* 6: 287-298.
- Carneiro, R.M.D.G.; Almeida, M.R.A.; Gomes, A.C.M.M. & Hernandez, A. 2005. *Meloidogyne izalcoensis* n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitising coffee in El Salvador. *Nematology* 7: 819-832.
- Carneiro, R.M.D.G. & Cofcewicz, E.T. 2008. Taxonomy of coffee-parasitic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. *In*: Souza, R.M. Plant parasitic nematodes of coffee. Springer. Holand. p. 87-122.
- Carneiro, R.M.D.G.; Santos, M.F.A.; Almeida, M.R.A.; Mota, F.C.; Gomes, A.C.M.M.; Tigano, M.S. 2008a. Diversity of *Meloidogyne arenaria* using morphological, cytological and molecular approaches. *Nematology* 10: 819-834.
- Castagnone-Sereno, P.; Wanlerberghe-Massuti, F. & Leroy, F. 1994. Genetic polymorphism between and within *Meloidogyne* species detected with RAPD markers. *Genome* 37:904-909.
- Castagnone-Sereno, P. 2006. Genetic variability and adaptive evolution in parthenogenetic root-knot nematodes. *Heredity* 96:282–289.
- Castillo, P & Jiménez-Días, R.M. 2003. First report of *Meloidogyne incognita* infecting spinach in southern Spain. *Plant Disease* 87 (7): 874.

- Castro, J. M. C.; Campos, V. P.; Pozza, E. A.; Naves, R. L.; Andrade Júnior, W. C.; Dutra, M. R.; Coimbra, J. L.; Maximiniano, C.; Silva, J. R. C. 2008. Levantamento de fitonematoides em cafezais do sul de Minas Gerais. *Nematologia Brasileira* 32 (1): 56-64.
- Caveness, F.E. 1981. Root knot nematodes. Annual Report IITA, Ibadan, Nigeria. p. 64-65.
- Cenis, J.L. 1993. Identification of four major *Meloidogyne* spp. by random amplified polymorphic DNA (RAPD-PCR). *Phytopathology* 83: 76-80.
- Chirchir, A.K.; Kimenju, J.W.; Olubayo, F.M. & Mutua, G.K. 2008. Abundance and distribution of plant parasitic nematodes associated with sugarcane in Western Kenya. *Asian Journal Plant Pathology* 2:48–53.
- Chirchir, A.K.; Kimenju, J.W.; Olubayo, F.M.; Mutua, G.K. 2011. Cultivar resistance of sugarcane and effects of heat application on nematodes in Kenya. *International Journal of Agricultural Research, Innovation and Technology* 6: 93–100.
- Chitwood, D.J. 2003. Research on plant-parasitic nematode biology conducted by the United States Department of Agriculture-Agriculture Research Service. *Pest Management Science* 59: 748-753.
- Clarck, W. C. 1963. A review of plant-parasitic nematodes in New Zealand. *New Zealand Weed Control Conference* 16:91-95.
- Coetzee, V. 1956. *Meloidogyne acronea*, a new species of root-knot nematode. *Nature* 177: 899-900.
- Correa, V.R.; Santos, M.F.A.; Almeida, M.R.A.; Peixoto, J.R.; Castagnone-Sereno, P. & Carneiro, R.M.D.G. 2013. Species-specific DNA markers for identification of two root-knot nematodes of coffee: *Meloidogyne arabicida* and *M. izalcoensis*. *European Journal Plant Pathology* 137: 305-313.
- Correa, V.R.; Mattos, V.S.; Almeida, M.R.A.; Santos, M.F.A.; Tigano, M.S.; Castagnone-Sereno, P. & Carneiro, R.M.D.G. 2014. Genetic diversity of the root-knot nematode *Meloidogyne ethiopica* and development of a species-specific SCAR marker for its diagnosis. *Plant Pathology* 63: 476-483.
- Coyne, D.L. 1995. Nematode pests of cassava. *African Crop Science Journal*, 2: 355-359.
- Coyne, D.L. & Namaganda, J.M. 1994. Root knot nematodes, *Meloidogyne* spp. incidence on cassava in two areas of Uganda. *Roots Newsletter* 1: 2-3.
- Coyne, D.L.; Talwana, H.A.L. & Maslen, N.R. 2003. Plant parasitic nematodes associated with root and tuber crops in Uganda. *African Crop Science Journal* 16: 367-375.

- Coyne, D. 2005. Pests, disease and the agro-ecosystem. *In: Manual for Sweetpotato Integrated Production and Pest Management Farmer Field Schools in Sub-Saharan Africa*, ed. by Stathers, T.; Namanda, S.; Mwanga, R.O.M.; Khisa, G.; Kapinga, R. International Potato Centre, Kampala, Uganda, Ch.4, pp.64–65.
- Coyne, D.L.; Toko, M. & Andrade, M. 2006. *Meloidogyne* spp. And associated galling and damage on cassava in Kenya and Mozambique. *African Plant Protection* 96: 35-36.
- Coyne, D.L. & Oyekanmi, E.O. 2007. Symbiotic nitrogen fixation of two soybean genotypes as affected by root-knot nematodes and microsymbionts. *Journal of Biological Science* 7: 122-126.
- Coyne, D.L.; Akphekhai, L.I. & Adeniran, A.F. 2011. The yam nematode (*Scutellonema bradys*), a potential threat to potato (*Solanum tuberosum*) production in west Africa. *Plant Pathology* 60:992-997.
- Crozzoli, P.R. & Hidalgo, S.O. 1992. Response of ten cassava cultivars to the nematode *Meloidogyne incognita*. *Fitopatologia Venezuelana* 5: 20-22.
- Curran, J.; Baillie, D.I. & Webster, J.M. 1985. Use of restriction fragments length differences in genomic DNA to identify nematode species. *Parasitology* 90: 137-144.
- Curtis, R.H.C.; Robinson, A.F. & Perry, R.N. 2009. Hatch and host location. *In: Perry, R.N.; Moens, M. & Starr, J.L. Root knot nematodes*. Wallingford, UK, CABI Publishing. p. 139-162.
- Dabaj, K.H. & Jenser, G. 1987. List of plants infected by root-knots nematodes in Libya. *International Nematology Network Newsletter* 4 (3): 28-33.
- Dalmasso, A. & Berge, J.B. 1978. Molecular polymorphism and phylogenetic relationship in some *Meloidogyne* spp.: application to the taxonomy of *Meloidogyne*. *Journal of Nematology* 10: 323-332.
- Daramola, F.Y.; Afolami, S.O.; Idowu, A.A. & Nwanguma, E.I. 2013. Studies on the occurrence and distribution of plant-parasitic nematodes in some pineapple-producing states in Nigeria. *Asian Journal of Crop Science* 5: 190-199.
- Davies, G.D. 1995. Bananas and plantains in East Africa. *In: Gowen, S.R. Bananas and plantains*. Chapman and Hall. London, p. 493-509.
- De Grisse, A. 1960. *Meloidogyne kikuyensis* n. sp., a parasite of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum*) in Kenya. *Nematologica* 5: 303-308.
- De Ley, P. & Blaxter, M.L. 2002. Systematic position and phylogeny. *In: Lee, D.L. the Biology of nematodes*. Taylor & Francis, London, P. 1-30.

- De Waele, D. & Elsen, A. 2007. Challenges in tropical plant nematology. *Annual Review of Phytopathology* 45: 457-485.
- Dickson, D.W.; Huisling, D. & Sasser, N. 1971. Dehydrogenases, acid and alkaline phosphatases, and esterases for chemotaxonomy of selected *Meloidogyne*, *Ditylenchus*, *Heterodera* and *Aphelenchus* spp. *Journal of Nematology* 3:1-16.
- Duponnois, R.; Mateille, T. & Gueye, M. 1995. Biological characteristics and effects of two strains of *Arthrobotrys oligospora* from Senegal on *Meloidogyne* species parasitizing tomato plants. *Biocontrol Science and Technology* 5 (4): 517-525.
- Duponnois, R.; Neyra, M.; Senghor, K. & Bâ, A.M. 1999. Effects of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on the symbiotic relationships between different strains of *Rhizobium* and *Acacia holosericea* (A. cunn. Ex G. Don). *European Journal of Soil Biology* 35: 99-105.
- Ebbels, D.L. & Allen, D.J. 1979. A supplementary and annotated list of plant diseases, pathogens and associated fungi in Tanzania. *Phytopathological Papers* 27: 89.
- Eddaoudi, M.; Ammati, M.; Rammah, A. 1997. Identification of the resistance breaking populations of *Meloidogyne* on tomatoes in Morocco and their effect on new sources of resistance. *Fundamental and Applied Nematology* 20 (3): 285 -289.
- Esbenshade, P.R. & Triantaphyllou, A.C. 1985. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 17(1): 6-20.
- Esbenshade, P.R. & Triantaphyllou, A.C. 1990. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 22 (1): 10-15.
- Eisenback, J.D. 1985. Detailed morphology and anatomy of second-stage juveniles, males and females of the genus *Meloidogyne* (root-knot nematodes). *In: Carter, C.C.; Sasser, J.N. An advanced treatise on Meloidogyne. v.1, Biology and control. North Carolina State University. Graphics, Raleigh.*
- Eisenback, J.D. 1997. Root-knot nematode taxonomic database. Wallingford, UK: CAB International.
- Eisenback, J.D. & Hunt, D.J. 2009. General morphology. *In: Perry, R.N.; Moens, N. & Starr, J.L. (Eds.). Root-knot nematodes. CABI North America Office. p. 18-54.*
- Eisenback, J.D. & Triantaphyllou, H.H. 1991. Root-knot nematode: *Meloidogyne* spp. and races. *In: Nickle, W.R. (Ed.). Manual of agricultural nematology. New York*
- Elmiligy, E.I.A. 1968. Three new species of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887 (Nematoda: Heteroderidae). *Nematropica* 14: 577-90.

- Esfahani, M.N. 2009. Distribution and identification of root-knot nematode species in tomato fields. *Mycopath* 7 (1): 45-49.
- Fargette, M. 1987. Use of the esterase phenotype in the taxonomy of the genus *Meloidogyne*. Esterase phenotypes observed in West African populations and their characterization. *Revue de Nematologie* 10 (1): 45-56.
- Fargette, M. & Braaksma, R. 1990. Use of the esterase phenotype in the taxonomy of the genus *Meloidogyne*. A study of “B” race lines and their taxonomic position. *Revue de Nematologie* 13 (4): 375-386.
- FAO. 2012. First status report on urban and periurban horticulture in Africa. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy.
- Fernandes, L.N. 2010. A pobreza na África subsaariana e suas consequências no mundo globalizado. *Revista de Desenvolvimento Econômico* 22: 87-96.
- Ferraz, L.C.C.B. & Monteiro, A.R. 1995. Nematoides. *In*: Bergamim Filho, A.; Kimati, H. & Amorim, L. (Eds.). *Manual de Fitopatologia*, v:1 Princípio e conceitos, cap. 8. 3º ed. São Paulo, Ceres. P. 168-201.
- Ferreira, M.E. & Grattapaglia, D. 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3ª ed. Embrapa. Brasília-DF.
- Fourie, H.; Zijlstra, C. & McDonald, A.H. 2001. Identification of root-knot nematode species occurring in South Africa using SCAR-PCR technique. *Nematology* 3: 675-689.
- Freitas, L.G.; Oliveira, R.D.L. & Ferraz, S. 2006. Introdução à Nematologia. 3ª ed.. Ed. UFV. Viçosa-MG.
- Frison, E. & Sharrock, S. 1999. The economic social and nutritional importance of banana in the word. *In*: Picq, C.; Fouré, E.; Frison, E.A. (Eds.). *Bananas and food security. Proceedings of International Symposium, Douala, Cameroon, 10-14 november, 1998.*
- Gautam, S.K.; Sahu, G.; Verma, B.K. & Poddar, A.N. 2014. Status of root-knot nematode (*Meloidogyne* species) disease in vegetable crops of some districts of central plain region of Chhattisgarh state, India. *African Journal of Microbiology Research* 8 (16): 1663-1671.
- Gedil, M.; & Sartie, A. 2010. Perspectives on molecular breeding on Africa’s main staple food crops cassava and yam. *Aspects of Applied Biology* 96: 123-135.
- Gowen, S.R. 2002. Integrated management of root-knot nematodes on vegetables in Kenya. Final Technical Report. Crop Protection Programme. UK.
- Gowen, S.R.; Quénehervé, P. & Fogain, R. 2005. Nematode parasites of bananas and plantains. *In*: Luc, M.; Sikora, R.A. & Bridge, J. (ed.). *Plant Parasitic nematodes in*

- subtropical and tropical agriculture. CAB International. Wallingford, Oxon, UK. p. 611–643.
- Hillocks, R.J. & Bridge, J. 1992. The role of nematodes in Fusarium wilt of cotton. *Afro-Asian Journal Nematology* 2:35–40.
- Hunt, D.J. & Handoo, Z.A. 2009. Taxonomy, identification and principal species. *In*: Perry, R.N.; Moens, M. & Starr, J.L. (Eds.). *Root-knot nematodes*. Wallingford, UK: CAB International. p.55–97.
- Hussey, R.S.; Sasser, J.N. & Huising, D. 1972. Disc-electrophoretic studies of soluble proteins and enzymes of *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria*. *Journal of Nematology* 4: 183-189.
- Ibrahim, I.K.A.; Ibrahim, I.A. & Rezk, M.A. 1972. Pathogenicity of certain parasitic nematodes on rice. *Alexandria Journal Research* 1: 175-181.
- IITA. 1981. Proceedings of the third research planning conference on root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. International *Meloidogyne* Project. p.1-286
- James, B.; Atcha-Ahowé, C.; Godonou, I. & Toko, L.M. 2010. Integrate pest management in vegetable production: a guide for extension workers in West Africa. International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Ibadam, Nigeria, 120 pp.
- Jepson, S.B. 1987. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Wallingford, UK, CAB international. 265 pp.
- Johnson, C.S.; Way, J. & Barker, K.R. 2005. Nematode parasites of tobacco. *In*: Luc, M.; Sikora, R.A.; Bridge, J. (Eds.) *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. CAB International. Wallingford, Oxon, UK. p. 675–708.
- Kanyagia, S.T. 1979. A survey of vegetable nematodes in Kenya. *East African Agricultural and Forestry Journal* 44(3):178-182
- Kanyagia, S.T. 1980. A survey of vegetable nematodes in Kenya. Horticulture Research and Development Project, Field Document No. 8, Thika Horticultural Research Station, Kenya.
- Kanyagia, S.T. 1983. A survey of vegetable nematodes in Kenya. *East African Agricultural and Forestry Journal* 44 (3): 178-1982.
- Kanyagia, S.T. 1988. Nematodes found associated with grapevines and areas of their distribution in Kenya. *In*: XII African symposium on horticultural crops. Nairobi, Kenya, January, 1988. International Society for Horticultural. Bruxelles, Belgium.
- Karamura, E.; Frison, E.; Karamura, D.A. & Sharrock, S. 1999. Banana production systems in eastern and southern Africa. *In*: Picq, C.; Foure, E.; Frison, E.A. (Eds.). *Banana and*

- food security, ed. Proceedings of an International Symposium held in Douala, Cameroon, 10–14 November, 1998. INIBAP. Montpellier, France. p.401–412.
- Kagoda, F.; Dereraa, J.; Pangirayi, T. & Coyne, D.L. 2009. Awareness of plant-parasitic nematodes, and preferred maize varieties, among smallholder farmers in East and Southern Uganda: implications for assessing nematode resistance breeding needs in African maize. *International Journal of Pest Management* 56: 217-222.
- Kagoda, F. 2010. Genetic studies and recurrent selection for nematode resistance in maize. PhD Thesis. University of KwaZulu Natal. Pietermaritzburg. South Africa.
- Karssen, G. & Moens, M. 2006. Root-knot nematodes. *In: Perry, R.L. & Moens, M. (Ed.) Plant nematology*, Cambridge, MA, USA, CABI America Office. p. 59-90.
- Khan, M.W. & Dabaj, K.H. 1980. Some preliminary observations on root-knot nematodes of vegetable crops in Tripoli region of Libyan Jamahiriya. *Libyan Journal of Agriculture* 9: 127-136.
- Khan, M.W. & Haider, S.R. 1991. Interaction of *Meloidogyne javanica* with different races of *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology* 23 (3): 298-305.
- Kimenju, J.W.; Waudu, S.W.; Mwangombe, A.W.; Sikora, R.A. & Schuster, R.P. 1998. Distribution of lesion nematodes associated with maize in Kenya and susceptibility of maize cultivars to *Pratylenchus zaei*. *African Crop Science Journal* 16: 119-131.
- Kimenju, J.W.; Karanka, N.K. & Macharia, I. 1999. Plant parasitic nematodes associated with common bean in Kenya and effect of *Meloidogyne* infection on bean nodulation. *African Crop Science* 7: 503-510.
- Kimenju, J.W.; Karanja, N.K. & Nyongesa, M.W. 2004. Diversity and abundance of nematodes on agroecosystems of Kenya. *Journal of Tropical Microbiology* 3: 24-33.
- Kimenju, J.W.; Wachira, P.M.; Lang'at, J.K.; Otieno, W.; Mutua, G.K. 2014. Evaluation of selected methods in the control of plant parasitic nematodes infecting carnation. *Journal of Agricultural Science* 6(3):31–38.
- Kleynhans, K.P.N. 1991. The root-knot nematodes of south Africa. Department of Agricultural Development, South Africa: Technical Communication N° 231.
- Kleynhans, K.P.N.; Van den Berg, E.; Swart, A.; Marais, M. & Buckley, N.H. 1996. Plant nematodes in South Africa. Pretoria, South Africa: ARC-Plant Protection Research Institute: Plant Protection Research Institute Handbook No. 8.
- Knight, K.W.L.; Barber, G.J. & Page, G.D. 1997. Plant parasitic nematodes of new Zealand recorded by host association. *Journal of Nematology* 29 (4s): 640 – 656.

- Kumar, P.; Kamalwanshi, R.S.; Kushwaha, I.K. 2010. Faunistic survey of plant parasitic nematode and wilt disease infecting pea. *Annals of Plant Protection Sciences* 18:280–282.
- Kwerepe, B.C. & Labuschagne, N. 2004. Screening of Bambara groundnut landraces for resistance/tolerance to *Meloidogyne incognita* race 2. *African Plant Protection*. 10: 35 – 41.
- Lamberti, F.; Boiboi, J.B. & Ciancio, A. 1988, Losses due to *Meloidogyne incognita* in okra in Liberia. *Nematologia Mediterranea* 16: 5-6.
- Lesufi, M.M.; Swart, A.; McDonald, A.H.; Knoetze, R.; Tiedt, L.R. & Truter, M. 2015. Morphological and molecular studies on *Aphelenchoides arachidis* Bos, 1977 (Tylenchina: Aphelenchoididae) from groundnuts in SouthAfrica. *Nematology* 17:433–445.
- Lima, I.M.; Souza, R.M.; Silva, C.P & Carneiro, R.M.D.G. 2005. *Meloidogyne* spp. from preserved areas of Atlantic forest in state of Rio de Janeiro, Brazil. *Nematologia Brasileira* 29 (1): 31-38.
- Lmagat, J.K.; Kimenju, J.W.; Mutua, G.K.; Muiuru, W. Mand, O. & Tieno, W. 2008. Response of free-living nematodes to treatments targeting plant parasitic nematodes in carnation. *Asian Journal Plant Sciences* 7:467–472.
- Lordello, R.R. & Fazuoli, L.C. 1980. *Meloidogyne decalineata* parasita cafeeiro na ilha de São Tomé. *Revista de Agricultura* 55: 238.
- Luc, M. 1968. Nematological problems in the former French tropical territories and Madagascar. *In: Smart, F.C. (ed.) Tropical Helmatology*. University of Florida. Gainesville, Florida, USA. p. 93-112.
- Luc M.; Bridge, J. & Sikora, R.A. 2005. Reflections on nematology in subtropical and tropical agriculture, *In: Luc M.; Bridge, J. & Sikora, R.A. (Eds.)*. Plant parasitic in subtropical and tropical agriculture. CAB International, Wallingford, Oxon, Uk, pp. 1-0.
- Maggenti, A. 1981. *General Nematology*: New York: Springer-Verlag.
- Maina, M.J.; Waceke, J.W. & Kariuki, J.M. 2010. Plant parasitic nematodes associated with cabbages in Nyandarua and Embu Districts. 12th KARI Biennial Sci Conf Proc, Kenya Agricultural Research Institute, Nairobi, Kenya.p.613–619.
- Makumbi-Kidza, N.N.; Speijer, P.R. & Sikora, R.A. 2000. The influence of *Meloidogyne incognita* on growth and storage-root formation of young cassava, *Manihot esculenta* Crantz, plants. *Journal Nematology* 32 (4s): 475-477.

- McDonald, A.H. & Nicol, J.M. 2005. Nematode parasites of cereals. *In: Plant Parasitic nematodes in Subtropical and Tropical agriculture*. Cab International, Wallingford, Oxon, Uk. p. 131-192.
- McLain, D.K.O.; Rai, K.S& Fraser, J.M. 1987. Intraspecific and interspecific variation in the sequence and abundance of highly repeated DNA among Mosquitoes of the *Aedes albopictus* subgroup. *Heredity* 58: 373-381.
- McSorley, R.; Ohair, S.K. & Parrado, J.L. 1983. Nematodes of cassava. *Nematropica* 13:261-287.
- Meng, Q.P.; Long, H. & Xu, J.H. 2004. PCR assays for rapid and sensitive identification of three major root-knot nematodes, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria*. *Acta Phytopathologica Sinica* 34: 204-210.
- Meressa, B. H.; Heuer, H.; Dehne, H.W. & Hallmann, J. 2014. First report of the root-knot nematode *Meloidogyne hapla* parasitizing roses in Ethiopia. *Plant Disease* 98 (9): 1286-1288
- Moens, M.; Perry, R. & Starr, J.L. 2009. *Meloidogyne* species a diverse group of novel and important plant parasites. p. 483 *In: Perry, R.N.; Moens, M. & Starr, J.L. Root-knot nematodes*. Wallingford, UK: CAB International. p.55–97.
- Moura, R.M. 1996. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. *In: Revisão Annual de Patologia de Plantas* 4: 209-245.
- Mudiope, J.; Coyne, D.L.; Adipala, E. & Talwana, H.A.L. 2012. Damage to yam (*Dioscorea* spp.) by root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) under field storage conditions in Uganda. *Nematropica* 42: 137-145.
- Muniz, M.F.S.; Campos, V.P.; Castagnore-Sereno, P.; Castro, J.M.C.; Almeida, M.R.A. & Carneiro, R.M.D.G. 2008. Diversity of *Meloidogyne exigua* (Tylenchida: Meloidogynidae) populations from coffee and rubber tree. *Nematology* 10: 897-910.
- Ngowi, A.V.F.; MBISE, T.J.; Ijani, A.S.M.; London, L. & Ajayi, O.C. 2007, Smallholder vegetable farmers in Northern Tanzania: Pesticides use Practices, perceptions, cost and health effects. *Crop Protection* 26: 1617-1624.
- Ngundo, B.W. & Taylor, D.P. 1974. Effect of *Meloidogyne* spp. on bean yields in Kenya. *Plant Disease Reporter* 58: 1020-1023.
- Nyombi, K. 2013. Towards sustainable highland banana production in Uganda: opportunities and challenges. *African Journal Food Agriculture Nutrition Development* 13:7544–7561(2013).

- Nzesya, M.J.; Wangai, K.J.; Maina, M.W.; Peter, W.M. & Elijah, G.K. 2014. Plant Parasitic Nematodes Associated With Coffee in Kenya and Factors Influencing their Occurrence, Abundance and Diversity. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* 4 (3): 120 – 129.
- Odendo, M.; Bationo, A. & Kimani, S. 2011 Socio-economic contribution of legumes to livelihoods in sub-sarharan Africa. *In: Bationo, A.; Waswa, B.; Okeyo, J.M.; Maina, F.; Kihara, J. & Mokwunye, U. Flighting poverty in sub-saharan Africa: the multiple roles of legumes in integrated soil fertility management. Springer, Dordrecht, The Netherlands. p. 27-46.*
- Oever, H.A.M. & Mangane, S.E. 1992. A survey of nematodes on various crops in Mozambique. *Afro-Asian Journal of Nematology* 1 (2): 74-79.
- Olowe, T. 2004. Occurrence and distribution of root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., in cowpea growing areas of Nigeria. *Nematology* 6 (6): 811-817.
- Onkendi, E.M. & Moleleki L.N. 2013. Detection of *Meloidogyne enterolobii* in potatoes in South Africa and phylogenetic analysis based on intergenic region and the mitochondrial DNA sequences. *European Journal of Plant Pathology* 136: 1 –5.
- Onkendi. E.M. & Moleleki, L.N. 2013a. Distribution and genetic diversity of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in potatoes from South Africa. *Plant Pathology* 62: 1184–1192.
- Onkendi, E.M.; Kariuki, G.M.; Marais, M. & Moleleki, L.N. 2014. The threat of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) on Africa: a review. *Plant Pathology* 63: 727-737.
- Orion, D. & Kritzman, G. 1991. Antimicrobial activity of *Meloidogyne javanica* gelatinous matrix. *Nematologica* 14:481–483.
- Oruko, L. & Ndun'gu, B. 2001. Final socio-economic report for the Peri-Urban Vegetable IPM thematic cluster. CABI/KARI/HRI/NRI/ University of Reading/IACR Rothamsted Collaborative Project. p.49.
- Otipa, M.J.; Kimenju, J.W.; Mureithi, J.G.; Kyalo, G. 2009. Potential of rotation crops in managing root knot (*Meloidogyne* spp.) nematodes in tomato. *African Journal Horticulture Science* 2:111–123.
- Page, S.L.J.; Mguni, C. & Sithole, S. 1990. Pest and diseases of crops in communal areas of Zimbabwe . ODA Tecnical Report 1985, London, UK.
- Piorr, A., Ravetz, J. & Tosics, I. 2011. Peri-urbanisation in Europe: Towards a European Policy to Sustain Urban–Rural Futures. University of Copenhagen/Academic Books Life Sciences.

- Ponte, J.J.; Torres, J. & Simplício, M.E. 1980. Behavior of cassava cultivars in relation to root-knot nematode. *In: Anais IV Reunião Brasileira de Nematologia* 16-20 de julho de 1979. Sociedade Brasileira de Nematologia. São Paulo, SP. p. 107-133.
- Parlevliet, J.E. 1971. Root-knot nematodes, their influence on the yield components of pyrethrum and their control. *Acta Horticulturae* 21: 201-205.
- Paran, I. & Michelmore, R.W. 1993. Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theoretical and Applied Genetics* 85: 985-993.
- Petersen, D.J.; Zijlstra, C.; Blok, V. & Vrain, T.C. 1997. Species probes efficiently distinguish root-knot nematodes species using signatures in the ribosomal intergenic spacer. *Fundamental and Applied Genetics* 85: 985-993.
- Powers, T.O. & Harris, T.S. 1993. A polymerase chain reaction method for identification of five major *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 25: 1-6.
- Quénéhervé, P.; Drob, F. & Topart, P. 2011. Host status of some weeds to *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Heliocotylechus* spp. and *Rotylenchulus reniformis* associated with vegetables cultivated in polytunnels in Martinique. *Nematopica* 25 (2): 149-157.
- Rammah, A. & Hirschmann, H. 1990. *Meloidogyne morocciensis* n. sp. (Meloidogyninae) a root-knot nematodes from Morocco. *Journal of Nematology* 22: 279-291.
- Randig, O.; Bongiovanni, M.; Carneiro, R.M.D.G.; Castagnore-Sereno, P. 2002. Genetic diversity of root-knot nematode from Brazil and development of SCAR markers specific for the coffee-damaging species. *Genome* 45: 862-870.
- Randig, O.; Carneiro, R.M.D.G. & Castagnore-Sereno, P. 2004. Identificação das principais espécies de *Meloidogyne* parasitas do cafeeiro no Brasil com Marcadores SCAR-Café em Multiplex-PCR.
- Roberts, P.A. 1995. Conceptual and practical aspects of variability in root-knot nematodes related to host plant resistance. *Annual Review of Phytopathology* 33: 199.
- Santos, M.F.A.; Furlanetto, C.; Almeida, M.R.A.; Carneiro, M.D.G.; Motta, F.C.; Gomes, A.C.M.M.; Silveira, N.O.R.; Silva, J.G.P.; Castagnore-Sereno, P.; Tigano, M.S.; Carneiro, R.M.D.G. 2012. Biometrical, biological, biochemical and molecular characteristics of *Meloidogyne incognita* isolates and related species. *European Journal Plant Pathology* 134: 687-674.
- Sasser, J.N. & Freckman, D.W. 1987. A word perspective on nematology; the role of the society. *In: Veech, J.A. & Dickson D.W. Society of Nematologists, Hyattsville, MD.* p. 7-14.

- Scurrah, M.I.; Niere, B. & Bridge, J. 2005. Nematode parasites of *Solanum* and sweet potatoes. *In*: Luc, M.; Sikora, R.A. & Bridge, J. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. CAB International, Wallingford, Oxon, UK. p. 193-219.
- Sharma, S.B.; Price, N. & Bridge, J. 1997. The past, present and future of plant nematology in International Agricultural Research Centres. *Nematol. Abstracts* 66:119–142.
- Sikora, R.A.; Reckhaus, P. & Adamou, E. 1988. Presence, distribution and importance of plant parasitic nematodes in irrigated agricultural crops in Niger. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent* 53 (2b): 821-834.
- Sharrock, S. & Frison, E. 1999. *Musa* production around the world – trends varieties and regional importance. *In*: Networking banana and plantain: INBAP Annual Report. Montpellier, France. p. 131-192.
- Sikora, R.A. & Fernandez, E. 2005. Nematode parasites of vegetables, *In*: Luc, M.; Sikora, R.A. & Bridge, J. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. CAB International, Wallingford, Oxon, UK. p. 319-392.
- Sikora, R.A.; Greco, N.; Velosa Silva, J.V. 2005. Nematode parasites of food legumes, in *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*, ed. by Luc, M., Sikora, R.A.; Bridge, J. CAB International, Wallingford, Oxon, UK ,p.259 –318.
- Silva, J.G.P. 2012. Ocorrência de *Meloidogyne* spp. em diferentes fitofisionomias do cerrado e hospedabilidade de plantas nativas a *M. javanica*. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal, Brasil.
- Simmonds, N.W. 1966. Bananas. 2ed, Tropical agriculture series, Longman, London, UK.
- Smiley, R. 2005. Plant parasitic nematodes affecting wheat yield in the pacific west. Oregon State University Extension Services EM 8887.
- Smit, D.; Annette, V.R. & Copley, J. 1996. Diagnostic evaluation studies - peri-urban Kwazulu-Natal. South Africa: Land and Agriculture Policy Center. 38 pp.
- Spaull, V.W. 1977. *Meloidogyne propora* n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae) from Aldabra Atoll, Western Indian Ocean, with a note on *M. javanica* (Treub). *Nematologica* 23: 177–86.
- Suleiman, U.F.; Ahmad, A. & Khan, A.A. 2015. Identity of root-knot nematodes on vegetables grown around Zobe dam and Jibia dam areas of Katsina state in Nigeria. *E-Journal of Science & Technology* 10: 71 – 75.
- Swai, I.S.; Nono-Womdim, R. & Opeña, R.T. 1996. Identification of root-knot nematodes affecting tomatoes in Tanzania. *TVIS Newsletter* 1 (2): 9.

- Tacoli, C. 1998. Rural-Urban Interactions: A guide to the literature. *Environment and Urbanization* 10: 147-166.
- Talwana, H.L.; Butseyia, M.M.; Tusiime, G. 2008. Occurrence of plant parasitic nematodes and factors that enhance population build-up in cereal-based cropping systems in Uganda. *African Crop Science Journal* 16: 119-131.
- Talwana, H.; Sibanda, Z.; Wanjohi, W.; Kimenju, J.W.; Luambano-Nyoni, N.; Massawe, C.; Manzanilla-López, R.H.; Davies, K.G.; Hunt, D.J.; Sikora, R.A.; Coyne, D.L.; Gowen, S.R. & Kerry, B.R. 2015. Agricultural nematology in East Southern Africa: problems, management strategies and stakeholder linkages. *Pest Management Science*. *In*:<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.4104/abstract?userIsAuthenticated=false&deniedAccessCustomisedMessage=>. Consultado em 04/02/2016.
- Tarjan, A.C. 1953. Geografic distribution of some *Meloidogyne* species in Israel. *Plant Disease Reporter* 37: 315-316.
- Taylor, D.P. 1976. Plant nematology problems in tropical Africa. *Common Wealth Institute of Helminthology. Abstr* 45B: 269-284.
- Taylor, A.L.; Sasser, J.N. & Nelson, L.A. 1982. Relationship of climate and soil characteristics to geographical distribution of *Meloidogyne* species in agricultural soils. Department of Plant Pathology, North Carolina State University & US Agency for International Development Raleigh. VI: 65pp.
- Taylor, D.T. & Sasser, J.N. 1983. Biología, identificación y control a los nematodos de nódulo de la raíz (*Meloidogyne* species). A Coop. Public. Dept. P1 Pathology, North Carolina State University and USAID, 111 pp.
- Tedford, E.C. & Fortnum, B.A. 1988. Weed hosts of *Meloidogyne arenaria* and *M. incognita* common in tobacco fields in South Carolina. *Journal of Nematology* 20 (2): 102-105.
- Tigano, M.; Siqueira, K.; Castagnone-Sereno, P.; Mulet, K.; Queiroz, P.; Santos, M.; Teixeira, C.; Almeida, M.; Silva, J.; Carneiro, R. 2010. Genetic diversity of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* and development of SCAR marker for this guava-damaging species. *Plant pathology* 59: 1054-1061.
- Trudgill, D.L. 1991. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. *Annual Review of Phytopathology* 29: 167-192.
- Trudgill, D.L.; Bala, G.; Blok, V.C.; Daudi, A. Davies, K.G. Gowen, S. R.; Fargette, M.; MAdulu, J.D.; Mateille, T.; Mwangeni, W.; Netscher, C.; Phillips, M.S.; Sawadogo, A.; Trivino, C.G. & Voyoukallou, E. 2000. The importance of tropical root-knot nematodes

- (*Meloidogyne* spp.) and factors affecting the utility of *Pasteuria penetrans* as a biocontrol agent. *Nematology* 2 (8): 823-845.
- Tzortzakakis, E.A.; Adam, M.A.M.; Blok, V.C. Paraskevopoulos, C. & Bourtziz, K. 2005. Occurrence of resistance-breaking populations of root-nematodes on tomato in Greece. *European Journal of Plant Pathology* 113: 101-105.
- Van Wyk, R.J. 1985. The occurrence of root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., in the tobacco-producing areas of South Africa. *Phytophylactica* 17: 165-166.
- Verhaeven, M. 2014. Root-knot nematodes in Tanzania: biocontrol and species characterization based on isozyme phenotypes and mitochondrial sequences. Master Dissertation. Universiteit Ghent, Belgium.
- Villain, L.; Sarah, J.; Hernández, A.; Bertrand, B.; Anthony, F.; Lashermes, P.; Charmetant, P.; Anzueto, F. & Carneiro, R.M.D.G. 2013. Diversity of root-knot nematodes parasitizing coffee in Central America. *Nematropica* 43 (2): 194-206.
- Zijlstra, C. 2000. Identification of *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax*, *M. hapla* based on SCAR-PCR: a powerful way of enabling reliable identification of populations or individuals that share common traits. *European Journal of Plant Pathology* 106: 283-290.
- Zijlstra, C.; Donkers-Venne, D.T.H.M.; Fargette, M. 2000. Identification of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* using sequence characterized amplified regions (SCAR) based PCR assays. *Nematology* 2: 847-853.
- Whitehead, A.G. 1959. The root-knot nematodes of East Africa *Meloidogyne africana* n. sp., a parasite of arabica coffee (*Coffea arabica* L.). *Nematologica* 4: 272-278.
- Whitehead, A.G. 1968. Taxonomy of *Meloidogyne* (Nematoda: Heteroderidae) with descriptions of four new species. *Transactions of the Zoological Society of London* 31: 263-401.
- Whitehead, A.G. 1969. The distribution of root-knot nematodes/*Meloidogyne* spp./ in tropical Africa. *Nematologica* 15(3): 315-333.
- Whitehead, A.G. & Kariuki, L. 1960. Root-knot nematode surveys of cultivated areas in East Africa. *East African Agriculture and Forestry Journal* 26: 87-91.
- Williamson, V.M.; Caswell-Chen, E.P.; Westerdahl, B.B.; Wu, F.F. & Caryl, G. 1997. A PCR assay to identify and distinguish single juveniles of *Meloidogyne hapla* and *M. chitwoodi*. *Journal of Nematology* 29(1): 9-15.

Wishart, J.; Phillips, M.S.; Blok, V.C. 2002. Ribosomal intergenic spacer: a polymerase chain reaction diagnostic for *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax* and *M. hapla*. *Phytopathology* 92: 884-892.

7. ANEXO

Tabela 10. Populações de *Meloidogyne* spp. em áreas periurbanas de países da África subsaariana.

Nº	Localidade	Cultura	Nome científica	Espécie
Benin				
1	Cotonou	Repolho	<i>Brassica sp.</i>	<i>M. izalcoensis</i> (I4)
2	Cotonou	Cenoura	<i>Daucus carota</i>	<i>M. incognita</i> (I2)
3	Cotonou	Sálvia roxa	<i>Salvia dorrii</i>	<i>M. izalcoensis</i> (I4)
4	Pahou Ouidah	Amaranthus	<i>Amaranthus spp.</i>	<i>M. incognita</i> (I2)
5	Pahou Ouidah	Quiabo	<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>M. incognita</i> (I2)
Nigeria				
6	Oniboure farm – Oyo state	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita</i> (I1) e <i>M. javanica</i> (J3)
7	Micro plot lab. - Iita	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita</i> (I2) e <i>M. enterolobii</i> (E4)
8	Okobo farm – Oyo State	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. enterolobii</i> (E4)
9	Nihort Ibadan – Oyo State	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. enterolobii</i> (E4)
10	Akufo farm – Oyo State	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. enterolobii</i> (E4)
11	Bagbon farm – Oyo State	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. enterolobii</i> (E4)
12	Ilorá – Oyo State	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita</i> (I2)
Quênia				
13	Mangu	Café	<i>Coffea spp.</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
14	Ciatundu	Café	<i>Coffea spp.</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
15	Kabete	Café	<i>Coffea spp.</i>	<i>M. izalcoensis</i> (I4)
16	Lamu	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita</i> (I2)
17	kilifi	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita</i> (I2)

18	Lamu	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3/J2b)</i>
19	Lamu	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
20	Lamu	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
21	Oloitoktok	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J2b)</i>
22	Taveta	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>Meloidogyne sp. (Sp.1)</i>
23	Taveta	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita (I2) e M.javanica (J3)</i>
24	Taveta	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3)</i>
Tazânia				
25	Kisse	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3)</i>
26	Kisse	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3)</i>
27	Donge	Pimentão	<i>Capsicum annuum var. annuum</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
28	Unguja ukuu	Quiabo	<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>M. arenaria (A2)</i>
29	Unguja ukuu	Quiabo	<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
30	Unguja ukuu	Quiabo	<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
31	Unguja ukuu	Quiabo	<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
32	Unguja ukuu	Quiabo	<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>M. arenaria (A2)</i>
33	Unguja ukuu	Quiabo	<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
34	Tindini	tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. izalcoensis (I4) e M. incognita(I2)</i>
35	Kisse	Quiabo	<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>M. javanica (J3) e M. incognita (I2)</i>
36	Hembeti	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
37				
38	Hembeti	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3) e M. incognita (I2)</i>

39	Kisse	Quiabo	<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>M. javanica (J3) e M. incognita (I2)</i>
40	Dakawa	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3), M. incognita (I2) e M. arenaria (A2)</i>
41	Donge chanjani	Pimentão	<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
42	Kianjai	Pimentão	<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>M. arenaria (A2) e M. incognita (I2)</i>
43	Unguja ukuu	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
44	Hembeti	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
45	Kwamsisi	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3)</i>
46	Unguja ukuu	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
47	Kisse	Quiabo	<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>M. javanica (J3)</i>
48	Kisse	Quiabo	<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>M. javanica (J3)</i>
49	Kianjai	Pimentão	<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>M. izalcoensis e M. incognita (I2)</i>
50	Msongozi	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>Meloidogyne sp. (SP.2)</i>
51	Fox farm	Espinafre	<i>Spinacia oleracea</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
52	Dakawa	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3)</i>
53	Hembeti	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
54	Donge	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3)</i>
55	Unguja ukuu	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. areanria (A2) e M. javanica (J3)</i>
56	Unguja ukuu	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. areanria (A2) e M. javanica (J3)</i>
57	Kisse	Cenoura	<i>Daucus carota</i>	<i>M. javanica (J3)</i>
58	Hembeti	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
59	Donge	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3)</i>
60	Msongozi	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3)</i>

61	Kisse	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. areanria (A2) e M. incognita (I2)</i>
62	Boko Kawe	Pimentão	<i>Capsicum annuum var. annuum</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
63	Miali	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3)</i>
64	Dibamba	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
65	Hembeli	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3)</i>
66	Pangani	Pimentão	<i>Capsicum annuum var. annuum</i>	<i>M. arenaria (A2)</i>
67	Hembeti	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3)</i>
68	Pangani	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
69	Kawe	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
70	Unguja ukuu	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3)</i>
71	Fuoni Melinne	Cenoura	<i>Daucus carota</i>	<i>M. incognita (I2) e M. javanica (J3)</i>
72	Kisse	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3)</i>
73	Tindini	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. izalcoensis e M. javanica (J3)</i>
74	Fuoni Melinne	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
75	Kisse	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica (J3)</i>
76	Mufindi	café	<i>Coffea spp.</i>	<i>M. incognita (I2), M. izalcoensis (I4) e M. hapla (H1)</i>

Uganda

77	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria (A2)</i>
78	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria (A2)</i>
79	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria (A2)</i>
80	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita (I2) e M. javanica (J3)</i>
81	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria (A2)</i>
82	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria (A2)</i>

83	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3) e <i>M. incognita</i> (I1)
84	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria</i> (A2)
85	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria</i> (A2)
86	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
87	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J2B + J3)
88	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
89	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J2)
90	Mukono	Berinjela	<i>Solanum melongena</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
91	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita</i> (I1) e <i>M. javanica</i> (J3)
92	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
93	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
94	Mukono	Pimentão	<i>Capsicum annuum</i> var. <i>annuum</i>	<i>M. arenaria</i> (A2), <i>M. incognita</i> (I1 + I2) e <i>M. javanica</i> (J3)
95	Mukono	Mandioca	<i>Manihot esculenta</i>	<i>M. incognita</i> (I2)
96	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita</i> (I2)
97	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita</i> (I2)
98	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
99	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
100	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
101	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
102	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
103	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
104	Luwero	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
105	Luwero	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
106	Kayunga	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria</i> (A2)
107	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita</i> (I2)

108	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria</i> (A2)
109	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria</i> (A2)
110	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria</i> (A2)
111	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
112	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J2a)
113	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
114	Luwero	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3+J2b)
115	Kayunga	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
116	Kayunga	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
117	Gomba	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
118	Nakasongola	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3+J2b)
119	Nakasongola	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javanica</i> (J3)
120	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria</i> (A2)
121	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria</i> (A2)
122	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria</i> (A2)
123	Wakiso	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria</i> (A2)
124	Mukono	Tomate e Berinjela	<i>Solanum lycopersicum. Solanum melongena</i>	<i>M. javânica</i> (J3)
125	Mukono	Tomate, Pimentão e Mandioca	<i>Solanum lycopersicum. Capsicum annuum var. annuum. Manihot esculenta</i>	<i>M. javânica</i> (J3) e <i>M. incognita</i> (II)
126	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javânica</i> (J2a+J3)
127	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javânica</i> (J3)
128	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javânica</i> (J3) e <i>M. incognita</i> (II)
129	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javânica</i> (J3)

130	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javânica (J3) e M. incognita (I1)</i>
131	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javânica (J3)</i>
132	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javânica (J3)</i>
133	Mukono	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javânica (J2b)</i>
134	Luwero	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita (I1), M. incognita (I2) e M. arenaria (A2)</i>
135	Kayunga	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javânica (J3)</i>
136	Kayunga	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javânica (J3)</i>
137	Gomba	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria (A2) e M. javânica (J3)</i>
138	Nakasongola	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javânica (J3)</i>
139	Nakasongola	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javânica (J3) e M. incognita (I2)</i>
140	Namulonge	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. arenaria (A2)</i>
141	Namulonge	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. javânica (J3)</i>
142	Namulonge	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>M. incognita (I2)</i>
