

Foto: Carlos Alberto Lopes



Metodologia para seleção de hortaliças com resistência a nematóides: Alface/*Meloidogyne* spp.

João Maria Charchar¹
Antônio Williams Moita²

A alface (*Lactuca sativa* L.), pertencente à família Asteraceae, é uma hortaliça folhosa de consumo *in natura* cultivada em condições de campo ou em solução nutritiva (hidroponia) em casa de vegetação. A alface, quando cultivada no campo, apresenta alta suscetibilidade à infecção por espécies de nematóides de galhas (*Meloidogyne* spp.). As cultivares de alface do tipo lisa (Figuras 1 B, C) apresentam maior suscetibilidade aos nematóides que as cultivares do tipo crespa (Figuras 1 D, E), principalmente quando as do tipo lisas são cultivadas no período de verão, com temperatura e umidade do solo mais elevadas (temperaturas acima de 28°C). A disseminação dos nematóides para as áreas de cultivos da alface ocorre principalmente por meio do substrato infestado no preparo de mudas, água

de irrigação contaminada e por solos infestados aderidos em máquinas e implementos agrícolas utilizados no preparo da área (Charchar & Moita, 1996).

O controle de *Meloidogyne* spp. é imprescindível para bom êxito de cultivo da alface, pois os nematóides de galhas podem causar perdas de até 100% na produção, dependendo da intensidade de infestação da área e da cultivar plantada (Charchar, 1995). O controle dos nematóides de galhas em áreas de produção de alface é feito, essencialmente, por rotação de culturas e uso de cultivares resistentes. A rotação de culturas é feita com o plantio de espécies de menor suscetibilidade aos nematóides, como gramíneas (milho e sorgo) e leguminosas antagônicas (crotalárias e

¹ Eng. Agrôn. PhD, Embrapa Hortaliças, C. Postal 218, 70359-970 Brasília-DF. E-mail: charchar@cnph.embrapa.br

² Matemático, MSc., Embrapa Hortaliças, C. Postal 218, 70359-970 Brasília-DF. E-mail: moita@cnph.embrapa.br

mucunas), que nem sempre proporcionam controle eficiente dos nematóides no campo (Charchar & Moita, 1996). Porém, o uso de cultivares do tipo crespa (Bix, Romana Balão, Salad Bowl Mimosa e Grand Rapids) com maior grau de resistência pode reduzir consideravelmente, o potencial de inóculo dos

nematóides no campo. As cultivares do tipo lisa (Vitória e Regina) são as mais suscetíveis aos nematóides (Charchar & Moita, 1996). O controle químico dos nematóides de galhas com nematicidas não é recomendado pelo ciclo curto da cultura e pela falta de registro de produto químico específico para alface no Brasil (Charchar, 1995).

Foto: Carlos Alberto Lopes

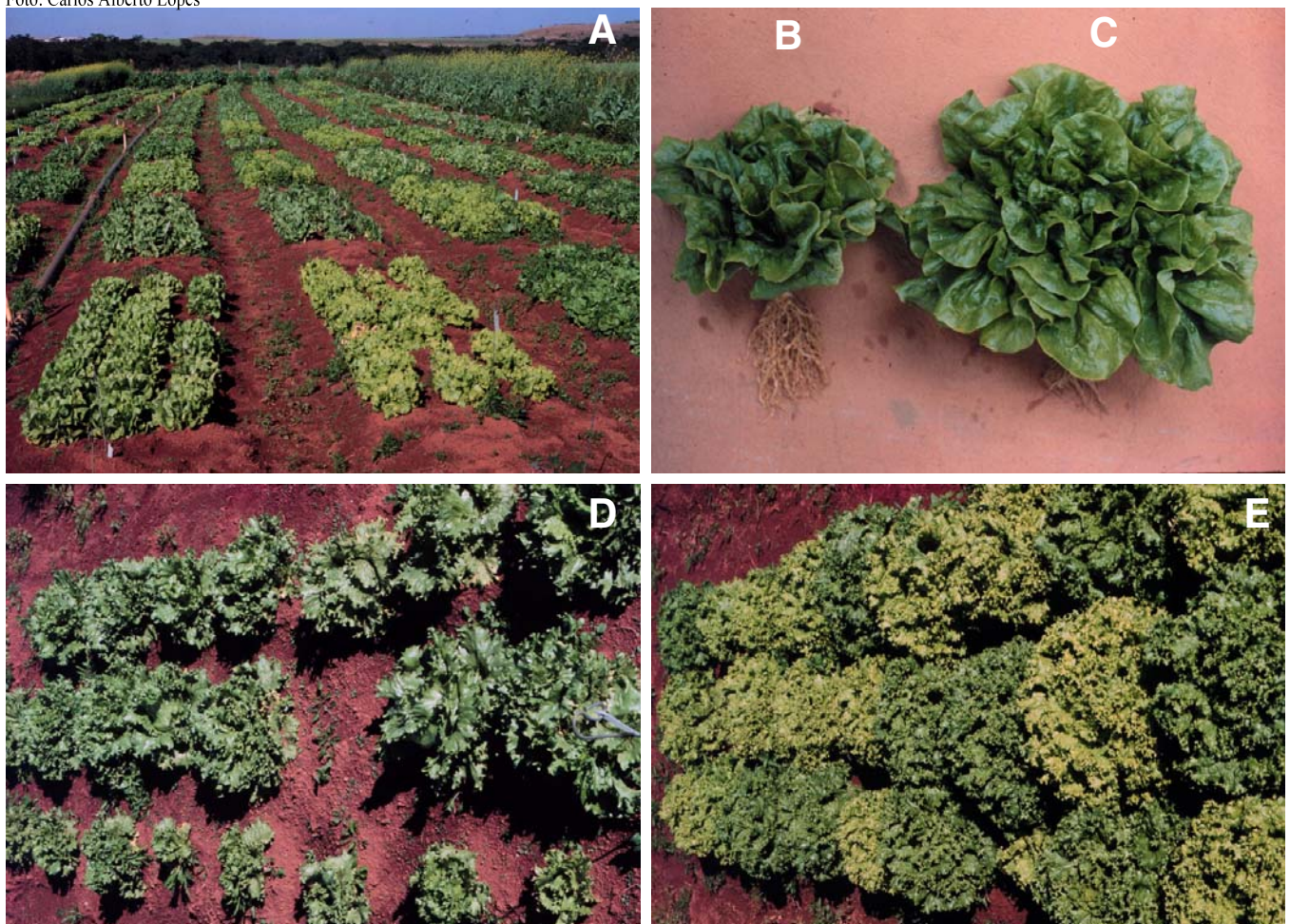


Fig. 1. Avaliação de cultivares de alface à infecção por *Meloidogyne* spp. em campo da Embrapa Hortaliças (A); cultivar do tipo lisa 'Regina' suscetível com galhas nas raízes e redução em altura e em diâmetro da cabeça (B); alface 'Regina' sem infecção nas raízes (controle) com bom desenvolvimento em altura e em diâmetro da cabeça (C); alface do tipo crespa 'Canon' moderadamente suscetível com falhas no canteiro (D); e alface do tipo crespa 'Grand Rapids' resistente sem falhas no canteiro (E).

Etiologia

As espécies dos nematóides de galhas que causam danos em alface no Brasil são: *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla* (Sasser & Taylor, 1978; Charchar, 1995) e *M. petuniae* (Charchar et al., 1999). As espécies *M. incognita* e *M. javanica* são encontradas com maior frequência em

regiões de altas temperaturas (25-28°C); *M. arenaria* em áreas do Centro-Oeste com temperaturas em torno de 25°C; *M. hapla* em áreas das regiões Sudeste e Sul, com temperaturas que variam de 12 a 24°C (Charchar, 1995); e *M. petuniae* em áreas restritas da região Centro-Oeste, onde a temperatura pode variar de 12 a 28°C (Charchar et al., 1999). Na região Centro-Oeste,

as espécies mais importantes que danificam a cultura da alface são *M. incognita* e *M. javanica*, podendo ocorrer isoladas ou conjuntamente nos cultivos de alface.

Variabilidade das espécies

As espécies do gênero *Meloidogyne* possuem raças biológicas com habilidades para infectar diferentes espécies de plantas: *M. incognita* raças 1, 2, 3 e 4; *M. arenaria* e *M. hapla* com as raças 1 e 2; e *M. javanica* raças 1, 2, 3 e 4. A espécie *M. petuniae* ainda não apresenta distinção de raças.

As quatro raças de *M. incognita* que infectam plantas de alface podem ser diferenciadas por reação em plantas de fumo 'NC 95' e algodão 'Deltapine' (Sasser & Taylor, 1978). As raças de *M. arenaria*, *M. hapla* e *M. javanica* são identificadas por infectar ou não plantas de pimentão 'California Wonder', amendoim 'Florrunner' e *Arachis pintoi* (Sasser & Taylor, 1978; Rammah & Hirschmann, 1990; Carneiro, 2003). As raças 1 e 2 de *M. incognita* e a raça 1 de *M. javanica* são as mais comuns em plantas da família Asteraceae. Nas infestações conjuntas de espécies, a raça 1 de *M. incognita* é encontrada com maior frequência associada à *M. javanica* raça 1 nos cultivos de alface no Distrito Federal e em outras regiões do Brasil. Nas raízes de alface, os nematóides de galhas podem também interagir com outros patógenos como fungos e bactérias do solo, contribuindo significativamente para aumentar a severidade de doenças no campo (Charchar, 1995).

Sintomatologia

O sistema radicular da alface suscetível pode apresentar elevado nível de infecção por nematóides do gênero *Meloidogyne*, com sintomas facilmente perceptíveis no campo. A presença de inúmeras galhas e massas de ovos dos nematóides, nas raízes principal e secundárias da alface, comprometem intensamente o desenvolvimento em altura e em diâmetro da cabeça, reduzindo-os a dimensões bem abaixo dos padrões exigidos para

comercialização e consumo *in natura* da alface (Figura 1 B, D).

As galhas dos nematóides formadas nas raízes da alface, isoladas ou coalescentes (Figura 1 B), podem também debilitar a planta pela incapacidade de absorver água e nutrientes do solo, o que conseqüentemente, causa o amarelecimento e a murcha das folhas no horário mais quente, no campo. No diagnóstico, o amarelecimento nas folhas (Figura 1 A) em decorrência da infecção por nematóides pode ser confundido com o sintoma de severa deficiência mineral da alface nas condições de campo.

Produção do inóculo na casa de vegetação

Os nematóides do gênero *Meloidogyne* são multiplicados na casa de vegetação em plantas de tomate 'Rutgers' ou em qualquer cultivar de comprovada suscetibilidade transplantada em vasos com capacidade para 2 kg de substrato esterilizado. O substrato utilizado na Embrapa Hortaliças é composto de solo de cerrado, areia lavada, esterco de gado e palha de arroz parcialmente queimada, na proporção de 1:1:1:1 (substrato padronizado). Em outras regiões, o solo de cerrado pode ser substituído por outros tipos de solo com baixo teor de matéria orgânica. Porém, quando utilizado solo rico em matéria orgânica, é dispensável o uso do esterco de gado na produção do substrato.

A adubação das plantas de tomate é feita com 300 g da formulação NPK 4-30-16 e 300 g de calcário dolomítico por 300 kg de substrato. As raízes das plantas de tomateiro, aos quinze dias após a germinação (uma planta/vaso), são inoculadas isoladamente com 5 ml da suspensão contendo 6.000 ovos e juvenis do segundo estágio recém-eclodidos (J2) de cada espécie ou raça dos nematóides. Aos 45-80 dias após a inoculação, ovos e J2 das espécies e raças são extraídos do sistema radicular de plantas de tomate 'Rutgers' ou de outra cultivar suscetível mantidas isoladamente na casa de

vegetação, com a temperatura flutuante entre 24 e 30°C. Os ovos e os J2 dos nematóides são extraídos isoladamente por agitação do sistema radicular das plantas infectadas com cada espécie ou raça, em solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, por 4 minutos (Hussey & Barker, 1973). Os ovos e os J2 são depois coletados com utilização de duas peneiras acopladas: uma de 350 mm (superior) e outra de 38 mm (inferior). A suspensão de ovos e de J2 coletada da peneira inferior é colocada em tubo plástico com capacidade para 100 ml e centrifugada em solução de açúcar (400 gramas de açúcar dissolvido por litro de água), de acordo com Jenkins (1964). A suspensão centrifugada do inóculo é armazenada em refrigerador ($\pm 10^{\circ}\text{C}$), por até duas semanas, para uso como inóculo nas plantas a serem mantidas com as populações puras de espécies e raças de *Meloidogyne*, em condições de casa de vegetação.

Justificativa para avaliação da resistência de alface em condições de campo.

O uso de cultivares de alface com resistência tem sido eficiente no controle dos nematóides de galhas nas condições de campo, tornando-se necessária a avaliação contínua de novas fontes de resistência. Novas cultivares, principalmente as do tipo americanas, surgem anualmente no mercado brasileiro. Porém, existe a grande dificuldade de a avaliação de resistência ser feita na casa de vegetação, devido ao fato de a planta de alface apresentar grande quantidade de massa foliar na cabeça, atingindo em média 30 cm em diâmetro, sendo portanto necessário o uso de vasos com capacidades para volumes superiores a 5 kg de substrato. O espaço limitado da casa de vegetação, restringe o número de cultivares a serem avaliadas, obrigando o uso de no máximo 3 a 4 repetições por tratamento e uma única planta por vaso. O número pequeno de repetições por tratamento nas avaliações de cultivares na casa de vegetação muitas vezes acarreta variabilidades experimentais com

inferências estatísticas indesejáveis, obtendo-se altos valores do coeficiente de variação, em certos casos superior a 50%. Outra grande desvantagem observada na casa de vegetação é a flutuação de temperaturas em que podem ocorrer máximas superiores a 30°C, que interferem ativamente tanto no processo de desenvolvimento da alface, como no de reprodução dos nematóides, dificultando seriamente a seleção de plantas. Por esta razão, a metodologia para avaliação de fontes de resistência da alface à infecção por *Meloidogyne* spp., foi desenvolvida para uso em campo na Embrapa Hortaliças. Essa metodologia, tem como principal vantagem a possibilidade de avaliação de maior número de cultivares ao mesmo tempo, com maior número de repetições por tratamento, temperaturas mais adequadas (18,0 a 28,5°C) e valores mais baixos de coeficiente de variação (CV) estatístico (abaixo de 20%), em relação às avaliações feitas no ambiente de casa de vegetação.

Metodologia para avaliação da resistência de alface no campo

Os nematóides do gênero *Meloidogyne* são multiplicados no campo, em plantas de quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* cultivar Santa Cruz 47) plantadas em linhas no espaçamento de 0,70 x 0,70 m, por no mínimo 120 dias. O quiabo 'Santa Cruz 47' é utilizado na infestação uniforme de *Meloidogyne* spp. na área de campo, por apresentar alta suscetibilidade aos nematóides, resistência às pragas e doenças, rusticidade que dispensa tratamentos culturais periódicos e facilidade de aquisição de sementes em qualquer região do País.

Trinta dias após a germinação do quiabeiro no campo, as plantas com três a cinco folhas são inoculadas com 10 ml da suspensão contendo 6.000 ovos e juvenis do segundo estágio recém-eclodidos (J2) da mistura, em partes iguais, de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* raça 1, espécies e raças de maior

distribuição geográfica na região Centro-Oeste (Charchar, 1995), para a infestação uniforme da área com os nematóides. O quiabeiro no campo é inoculado com ovos e J2 obtidos de plantas de tomate mantidas com as populações puras dos nematóides na casa de vegetação. O inóculo constituído da mistura de *M. incognita* raça 1 e *M. javanica* raça 1, para inoculação do quiabeiro, é recomendável, por se considerar que a mistura populacional dessas espécies e raças ocorre naturalmente nas áreas produtoras de alface. A parte aérea do quiabeiro é eliminada por corte da haste rente ao solo, aos 120 dias após a inoculação, e as raízes com galhas do quiabeiro são imediatamente desenterradas, trituradas e uniformemente reincorporadas ao solo, a uma profundidade de até 25 cm, com auxílio de arado e grade no período mais fresco da manhã. A área é irrigada por aspersão para evitar o ressecamento excessivo do solo, a morte dos nematóides e a desuniformidade na infestação da área.

As cultivares de alface são transplantadas na área infestada por nematóides em canteiros de 0,80 x 50,0 m, nos quais cada cultivar ocupa a parcela de 1,60 m² (0,80 x 2 m), com espaço para 16 plantas adultas. O comprimento dos canteiros pode variar de acordo com o número de cultivares disponíveis na avaliação. As cultivares de alface são semeadas primeiramente no substrato padronizado e esterilizado (mesmo substrato utilizado no preparo de inóculo na casa de vegetação) em bandejas de isopor com 72 células. As mudas são desbastadas para uma planta por célula e transplantadas no campo aos 10-15 dias após o semeio. As cultivares do tipo lisa (Vitória e Regina), altamente suscetíveis às espécies de *Meloidogyne*, são utilizadas como testemunhas na comparação com cultivares a serem avaliadas. Outras cultivares de comprovada suscetibilidade podem ser utilizadas onde sementes de 'Vitória' e 'Regina' não sejam disponíveis no mercado. O delineamento experimental sugerido nas avaliações de campo é de blocos ao acaso, com no mínimo quatro repetições. Cada parcela (repetição) é

composta de no mínimo 16 plantas de alface. As temperaturas do solo no campo devem ser registradas de preferência com "termógrafo automático" no período experimental, para o monitoramento de temperaturas mínima e máxima nas camadas entre 20 e 25 cm de profundidade do solo. O experimento no campo pode ser irrigado por aspersão.

Nas avaliações da resistência de alface, fator de reprodução (FR), índice de galhas (IG), índice de massas de ovos (IMO) e número de ovos por planta (NO/P) das espécies de *Meloidogyne* são parâmetros que podem ser utilizados na seleção de cultivares com resistência, no campo. Outras variáveis, como altura e diâmetro da cabeça e peso fresco da raiz podem ser também utilizadas como complementares. O fator de reprodução (FR) é determinado pela razão entre população final (Pf) e população inicial (Pi) dos nematóides por parcela no campo ($FR = Pf/Pi$), estimadas em amostras de 2 kg de solo coletadas em pontos distintos nas parcelas, em profundidades de 20-25 cm, após o cultivo do quiabeiro (Pi), e durante a colheita das cultivares de alface (Pf), após o ciclo vegetativo de 55 a 70 dias. A extração dos nematóides das amostras de solo para determinação das Pi e Pf dos nematóides por parcela pode ser feita de acordo com os métodos sugeridos por Charchar (2001).

As cultivares são colhidas no final do ciclo da alface, 55 a 70 dias após o transplante dependendo da cultivar, coletando no mínimo cinco plantas por parcela. As raízes devem ser cortadas na região do colo e lavadas com água. Quando necessário, mede-se a altura e o diâmetro da cabeça e pesa-se a raiz fresca, durante a colheita. As raízes são depois imersas em solução de Phloxine B (0,5 g/l de água) por 15 minutos (Dickson & Struble, 1965), para coloração e contagem das massas de ovos dos nematóides. As massas de ovos são contadas com a raiz imersa em água, sob lupa de vidro com aumento de dez vezes. O produto Phloxine B, colore as massas de ovos dos nematóides na cor vermelha, facilitando a

visualização e a contagem. Para contagem do número de galhas, utiliza-se a mesma metodologia, sem coloração com Phloxine B. A média dos números de massas de ovos e de galhas dos nematóides é determinada de acordo com o número de plantas utilizadas para representar cada repetição nos blocos. Utiliza-se a escala de 1 a 5 para determinação dos índices de massas de ovos ou de galhas nas raízes das plantas de alface, de acordo com o número de massas de ovos ou de galhas dos nematóides nas raízes (Charchar et al., 2003), nos seguintes intervalos:

Índice de massas de ovos:

- 1) raiz sem massas de ovos;
- 2) raiz com um a cinco massas de ovos;
- 3) raiz com seis a quinze massas de ovos;
- 4) raiz com dezesseis a trinta massas de ovos; e
- 5) raiz com mais de trinta massas de ovos.

Índice de Galhas:

- 1) raiz sem galhas;
- 2) raiz com até 10 galhas pequenas;
- 3) raiz com até 50 galhas pequenas;
- 4) raiz com mais de 50 galhas pequenas e até 10 galhas grandes; e
- 5) raiz com mais de 50 galhas pequenas e mais de 10 galhas grandes coalescentes. As galhas com dimensões acima de três mm são consideradas grandes.

As reações de cultivares à infecção por espécies do gênero *Meloidogyne* são denominadas com base na média dos índices de massas de ovos ou de galhas dos nematóides, nas cinco plantas coletadas por repetição, e que representam cada cultivar por bloco, considerando-se as seguintes amplitudes: a) altamente resistente (AR) - média dos índices de massas de ovos ou de galhas entre 1,0 e 1,8; b) resistente (R) - entre 1,9 e 2,6; c) moderadamente resistente (MR) - entre 2,7 e 3,4; d) suscetível (S) - entre 3,5 e 4,2; e) altamente suscetível (AS) - entre 4,3 e 5,0 nas raízes, (Charchar et al., 2003).

Os índices de massas de ovos e de galhas dos nematóides são opções para usos separado ou simultâneo, considerando que as duas opções

expressam, semelhantemente, a reação de plantas por infecção de *Meloidogyne*. Porém, na alface, especificamente, os índices de massas de ovos e de galhas não mostram correlação positiva com o potencial de produção de ovos dos nematóides. Os valores altos desses índices nem sempre correspondem a valores altos no potencial de produção de ovos. Sendo assim, recomenda-se a quantificação do número de ovos (potencial de inóculo produzido) pelas espécies de *Meloidogyne* em cada cultivar avaliada, considerando que diferentes genótipos de alface apresentam diferenças no potencial de produção de ovos. Os ovos e os J2 dos nematóides por planta de alface são extraídos pelo método de Hussey & Barker (1973). Em seguida, são quantificados com auxílio de lupa com aumentos de até 40 vezes, após serem coletados em peneira de 38 mm (400 mesh) e centrifugados em solução de açúcar (Charchar, 2001).

A análise de agrupamento (“average cluster analysis”), distância Euclidiana média, pode ser utilizada para separação dos grupos de cultivares de alface com resistência e suscetibilidade (reação), usando como parâmetro principal o número de ovos (potencial de inóculo) produzidos pelas espécies de *Meloidogyne*, por planta. Os parâmetros fator de reprodução (FR), índices de massas de ovos (IMO) e índice de galhas (IG) são usados como complemento no controle ambiental da área experimental no campo. Os outros parâmetros de altura e diâmetro da cabeça e peso fresco da raiz podem complementar ainda mais as avaliações na casa de vegetação, onde as temperaturas altas podem causar estresse nas plantas.

Exemplos da reação de alface por infecção da mistura populacional de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* raça 1 no campo

A Tabela 1 mostra a reação de 22 cultivares de alface, avaliadas para resistência à infecção

pela mistura populacional de *M. incognita* raça 1 e *M. javanica* raça 1, no campo experimental da Embrapa Hortaliças, onde a temperatura do solo a 20-25 cm de profundidade variou de 18 a 28,5°C, durante o período experimental. O parâmetro principal utilizado para seleção de cultivares resistentes foi o número de ovos e de J2 recém-eclodidos (potencial de inóculo) da mistura dos nematóides por planta de alface (NO/P). A análise de agrupamento de cultivares sugeriu a seguinte escala de reação de plantas: 1) altamente resistente (AR) - cultivares com zero a 13,3 ovos e J2 recém-eclodidos dos nematóides produzidos na raiz; 2) resistente (R) - cultivares com 20,0 a 40,0 ovos e J2; 3) moderadamente resistente (MR) - cultivares

com 46,7 a 266,7 ovos e J2; 4) moderadamente suscetível (MS) - cultivares com 386,7 a 688,0 ovos e J2; 5) suscetível (S) - cultivares com 753,3 a 1.206,7 ovos e J2; e 6) altamente suscetível (AS) - cultivares com 1.946,7 a 2.420,0 ovos e J2 recém-eclodidos produzidos na raiz. Os parâmetros fator de reprodução (FR=Pf/Pi) e índice de galhas (IG) dos nematóides foram também utilizados como controle ambiental no monitoramento da infestação do solo e da infecção de plantas, respectivamente, na seleção de cultivares com resistência à infecção pela mistura de *M. incognita* raça 1 e *M. javanica* raça 1, nas condições de campo da Embrapa Hortaliças (Tabela 1).

Tabela 1. Reação de cultivares de alface de diferentes tipos e origens à infecção pela população mista de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* no campo

Cultivares	Tipos	Origens	FR=Pf/Pi ¹	IG ²	NO/P ³	Reação ⁴
Bix	Crespa	Asgrow	0,9 c*	1,12	0,0	AR
Romana Balão	Crespa repolhuda	Topseed	1,7 bc	1,64	0,0	
Salad Bowl Mimosa	Crespa roxa	Topseed	6,7 abc	1,54	13,3	
Great Lakes 659-700	Crespa repolhuda	Asgrow	10,0 abc	1,52	25,0	R
Simpson	Crespa	Isla	9,4 abc	1,44	26,7	
Grand Rapids	Crespa repolhuda	Asgrow	10,6 abc	1,20	33,3	
Salinas	Crespa	Agroflora	6,5 abc	1,40	40,0	
Hason Americana	Crespa	Topseed	8,2 abc	1,40	46,7	MR
Kagraner de verão	Lisa	Isla	12,3 ab	3,54	60,0	
Sea Green Nua	Crespa	Asgrow	8,4 abc	1,96	111,6	
Verônica	Crespa	Agroflora	13,7 ab	1,82	120,7	
Floresta Nua	Lisa	Asgrow	15,0 ab	2,50	266,7	
Regina (1)	Lisa	Topseed	7,6 abc	3,26	386,7	MS
Brisa	Lisa	Asgrow	12,7 ab	2,80	473,3	
Repolhuda Brasil 303	Lisa repolhuda	Agrocere	8,1 abc	4,76	673,3	
Baba de Verão	Lisa	Agroflora	15,8 ab	3,90	688,0	
Vitória de Verão	Lisa	Isla	4,9 abc	4,30	753,3	S
Baba	Crespa	Agrocere	6,1 abc	4,86	786,7	
White Boston (Sem rival)	Lisa	Topseed	5,1 abc	3,80	986,7	
Piracicaba-65	Lisa	Agrocere	8,1 abc	5,00	1.206,7	AS
Vitória	Lisa	Tanebrass	6,6 abc	4,80	1.946,7	
Regina (2)	Lisa	Asgrow	10,4 abc	4,38	2.420,0	
Média			8,6	3,20	549,9	
C.V. (%)			12,47	11,04	17,09	

* Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK), a 5% de probabilidade. Os valores são médias de quatro repetições e foram transformados para $\ln(x+1)$.

¹ FR=Pf/Pi: fator de reprodução (FR) determinado pela razão entre População final (Pf) e População inicial (Pi) dos nematóides.

² IG: índice de galhas dos nematóides determinado pela escala de 1 a 5. 1) raiz sem galhas; 2) raízes com até 10 galhas pequenas; 3) raiz com até 50 galhas pequenas; 4) raiz com mais de 50 galhas pequenas e até 10 grandes; e 5) raiz com mais de 50 galhas pequenas e mais de 10 galhas grandes coalescentes.

³ NO/P: número de ovos dos nematóides produzidos por planta (potencial de inóculo produzido).

⁴ Reação: denominações obtidas por análise de agrupamento das cultivares ("average cluster analysis"): AR= altamente resistente; R= resistente; MR= moderadamente resistente; MS= moderadamente suscetível; S= suscetível; e AS= altamente suscetível.

Referências Bibliográficas

CARNEIRO, R.M.D.G.; R.G. CARNEIRO; D.I.N. NEVES & M.R.A. ALMEIDA. Nova raça de *Meloidogyne javanica* detectada em *Arachis pinto* no Estado do Paraná. *Nematologia Brasileira*, Brasília, v.27, n.2, p.219-221, 2003.

CHARCHAR, J.M. *Meloidogyne* em hortaliças. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE NEMATOLOGIA TROPICAL; CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, 19; ENCONTRO ANUAL DA ORGANIZAÇÃO DOS NEMATOLOGISTAS DA AMÉRICA TROPICAL, 27., 1995, Rio Quente. Programa e anais... Rio Quente: SBN/ONTA, 1995. p.149-153.

CHARCHAR, J.M. *Métodos simplificados em Nematologia*. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2001. 12p. (Embrapa Hortaliças. Circular Técnica, 23).

CHARCHAR, J. M.; EISENBACK, J. D.; HIRSCHMANN, H. *Meloidogyne petuniae* n. sp. (*Nemata: Meloidogynidae*), a root-knot nematode parasitic on petunia in Brazil. *Journal of Nematology*, v. 31, n. 1, p. 81-91, 1999.

CHARCHAR, J.M.; GIORDANO, L.B.; BOITEUX, L.S. *Metodologia para seleção de hortaliças com resistência a nematóides: Famílias Convolvulaceae e Solanaceae/Meloidogyne spp*. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2003. 4p. (Embrapa Hortaliças. Comunicado Técnico, 21).

CHARCHAR, J.M.; MOITA, A.W. Reação de cultivares de alface à infecção por mistura populacional de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* em condições de campo. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.14, n.2, p.185-189, 1996.

DICKSON, D. W.; STRUBLE, F. B. A sieving-staining technique for extraction of egg mass of *Meloidogyne incognita* from soil. *Phytopathology*, v. 55, p. 497, 1965.

FLEGG, J.J.; HOOPER, D.J. Extraction of free-living stages from soil. In: SOUTHEY, J.F., ed. *Laboratory methods for working with plant and soil nematodes*. London: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1970. 148p. (Technical Bulletin, 2).

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including new technique. *Plant Disease Reporter*, v. 57, p. 1025-1028, 1973.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, v. 48, p. 692, 1964.

RAMMAH, A.; HIRSCHMANN, H. Morphological comparison of three host races of *Meloidogyne javanica*. *Journal of Nematology*, v. 22, n. 1, p. 56-68, 1990.

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

Comunicado Técnico, 26

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Hortaliças
BR 060 km 9 Rod. Brasília-Anápolis
C. Postal 218, 70359-970 - Brasília-DF



www.cnph.embrapa.br
Telefone: (61) 3385-9009
Fax: (61) 3385-9042
E-mail: sac.hortalicas@embrapa.br



1ª edição
1ª impressão (2005): 500 exemplares

Comitê de Publicações: Presidente: Gilmar P. Henz
Secretária-Executiva: Fabiana S. Spada
Editor Técnico: Flávia A. de Alcântara
Membros: Alice Maria Quezado Duval
Miriam Josefina Baptista
Nuno Rodrigo Madeira
Paulo Eduardo de Melo

Expediente Supervisora editorial: Sieglinde Brune
Fotos: Carlos Alberto Lopes
Editoração eletrônica: José Miguel dos Santos