

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

Identificação de raças fisiológicas de *Meloidogyne javanica* e *M. arenaria* parasitas em plantas de soja na Região do Distrito Federal e Entorno

Deborah Pereira de Oliveira

MONOGRAFIA DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**BRASÍLIA-DF
DEZEMBRO/2016**

Universidade de Brasília
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - FAV

**Identificação de raças fisiológicas de *Meloidogyne javanica* e *M. arenaria*
parasitas em plantas de soja na Região do Distrito Federal e Entorno**

Deborah Pereira de Oliveira
Matrícula: 12/0115212

Projeto final de Estágio Supervisionado, submetido à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, como requisito parcial para a obtenção do grau de Engenheira Agrônoma.

APROVADO PELA BANCA EXAMINADORA:

Prof. Cleber Furnaletto
Eng. Agr. PhD. em Fitopatologia
Orientador

Prof. Marcelo Fagioli
Eng. Agr. Dr. em Produção e Tecnologia de Sementes
Examinador Interno

Vanessa Mattos
Eng. Agr. MS. em Fitopatologia
Examinador Externo

Brasília-DF, 06 dezembro de 2016.

Oliveira, Deborah Pereira de

Identificação de raças fisiológicas de *Meloidogyne javanica* e *M. arenaria* parasitas em plantas de soja na Região do Distrito Federal e Entorno/ Deborah Pereira de Oliveira.

Orientação: Cleber Furlanetto, Brasília 2016.

Monografia - Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2016.

1. *Glycine Max* L.(Merrill), nematoide das galhas, raças fisiológicas

I. Furlanetto, C. II. PhD

CESSÃO DE DIREITOS

Nome do Autor: Deborah Pereira de Oliveira

Título da Monografia de Conclusão de Curso: Identificação de raças fisiológicas de *Meloidogyne javanica* e *M. arenaria*, em plantas de soja na Região do Distrito Federal e Entorno.

Ano: 2016

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Deborah Pereira de Oliveira Matrícula: 12/0115212

SHVP Rua 3 Ch 44, Lt 43-A

CEP:72110-800, Brasília-DF

Tel.: (61) 98252-0439

E-mail: deborah.dpereira@gmail.com

À Deus, por ser essencial em minha vida. Seu fôlego de vida foi-me sustento e deu-me coragem, pois sem Ele eu não teria forças para vencer essa longa jornada. Agradeço aos meus professores, à minha família e aos meus colegas que ajudaram-me na conclusão da monografia.

AGRADECIMENTOS

À Deus, meu provedor e sustentador, que sem Ele não seria nada e não estaria no lugar onde estou hoje.

Aos meus amados pais, Janete e Benedito e ao meu irmão Rodrigo por toda paciência, incentivo, amor durante todos esses anos e auxílio para que essa minha jornada acadêmica fosse possível.

À Dr. Léa por todo investimento na minha vida acadêmica e pessoal, minha sincera gratidão.

Ao meu orientador Cleber Furlanetto por ter acreditado no meu potencial, pela ajuda e orientação durante quase três anos no laboratório de nematologia.

Ao querido professor e doutor Marcelo Fagioli, por todo auxílio, conhecimento fornecido, disponibilidade em ajudar e pelas palavras de incentivo e amizade.

Aos meus familiares e amigos que sempre me apoiaram e ajudaram sejam em ações, palavras ou orações.

À Universidade de Brasília (UnB) e ao Departamento de Fitopatologia para realização do experimento e pelo auxílio técnico conferido.

Aos professores da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, que participaram da minha formação acadêmica, pela atenção, dedicação e transmissão de conhecimento no decorrer do curso.

Aos funcionários da Estação Biológica da UnB e do Departamento de Fitopatologia: Sr. Fábio e Arlindo por terem me ajudado a cuidar das minhas plantas.

Aos meus queridos amigos do Laboratório de Nematologia: Nancy Castañeda, Pedro Verlage, Ramon Lira, Danilo Furtado, Cecília Rodrigues, Vanessa Mattos, Daniela Stefanato, Carina Lopes, Reinaldo Pimentel, Kamila Araújo, Fernanda Mesquita, Patrícia Honorato, Larissa Caixeta e professor Juvenil. Obrigada por toda à ajuda e conhecimento fornecido. Vocês são incríveis!

Em especial à minha querida amiga Cecília, por toda amizade, viagens aos congressos, apoio, incentivo, conselhos e ajuda, tanto para a realização dessa monografia como na longa jornada de aventuras que é a vida. A querida Nancy por todo conhecimento, ajuda e incentivo. Sua dedicação em ensinar gerou em mim amor pelos nematoides.

Aos meus amigos da graduação: Túlio Martins, Maycon Laia, Mariana Calaça, Brenda Bezerra, Thamires Maitto, Sabrina Ferreira, Jéssica Viana, Giuseppe Aquila e ao melhor semestre: 2/2012. Vocês me ajudaram, tiveram paciência, me

incentivaram quando pensei que não iria conseguir. Obrigada por todos os momentos de alegrias, lutas e glórias que vivemos. Vocês tornaram essa jornada de graduação mais leve.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO.....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. A cultura da soja	4
3.2. Patógenos da cultura da soja	6
3.3 O gênero <i>Meloidogyne</i>	7
3.3.1 <i>Meloidogyne javanica e arenaria</i>	8
3.4. Região Integrada do Desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno (RIDE).....	9
4. MATERIAL E MÉTODOS	10
4.1. Local do experimento	10
4.2. Obtenção de populações de <i>Meloidogyne javanica e arenaria</i> , reprodução em tomateiro	10
4.3. Identificação de <i>Meloidogyne spp</i>	10
4.4. Extração de ovos e J2 do tomateiro inoculados com <i>Meloidogyne spp</i> ...	12
4.5. Semeadura e cultivo de plantas diferenciadoras	12
4.6. Avaliação Experimental	14
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
6. CONCLUSÕES	21
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

Identificação de raças fisiológicas de *Meloidogyne javanica* e *M. arenaria* parasitas em plantas de soja na Região do Distrito Federal e Entorno

RESUMO

A cultura da soja é cultivada de norte a sul no Brasil, sendo de fundamental importância para a balança comercial brasileira. A Região Integrada de Desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno (RIDE) tem na cultura da soja a sua principal fonte de renda, ocupando grande parte da área plantada. A RIDE é composta por 22 municípios e o Distrito Federal, abrangendo áreas com cobertura vegetal típica de cerrado. A identificação de raças fisiológicas de *Meloidogyne* spp. presentes em uma área ou região é importante para a caracterização de populações desses nematoides visando testes de resistência genética em germoplasma de soja. Adicionalmente, o conhecimento prévio da raça fisiológica de *Meloidogyne* pode auxiliar na recomendação de plantas para rotação. Dentre os patógenos de maior importância econômica à soja no Brasil, os nematoides indutores de galha radicular do gênero *Meloidogyne* estão entre os mais importantes, com destaque para *M. javanica* e *M. arenaria*. Objetivou-se a identificação de raças fisiológicas de cinco populações de *M. javanica* e uma de *M. arenaria* coletadas em soja na RIDE. Populações de ambas as espécies foram multiplicadas em tomateiros cv. Santa Clara, cultivadas em substrato estéril e mantidas em casa-de-vegetação. As plantas de cultivares de diferenciadoras foram semeadas em células individuais de bandejas de isopor com substrato estéril. Após a germinação, as diferenciadoras foram transplantadas para sacos plásticos com 3 Kg de substrato estéril. Trinta dias após o transplante, plantas individuais das diferenciadoras foram inoculadas com as diferentes populações de *Meloidogyne* spp. Cada planta recebeu inóculo com 5.000 ovos de uma determinada população. O experimento seguiu o delineamento inteiramente casualizado em fatorial 6 (populações de *Meloidogyne*) X 6 (plantas diferenciadoras) X 4 (repetições). A avaliação ocorreu aos 60 dias após a inoculação das plantas diferenciadoras e foi realizada com base em variáveis dos nematoides como índice de galhas, índice de massas de ovos e Fator de reprodução. Os resultados obtidos confirmaram a presença da raça 1 de *M. javanica* e da raça 2 de *M. arenaria* nas populações estudadas.

Palavras-chave: *Glycine max* L. (Merrill), nematoide-das-galhas, raças fisiológicas

1. INTRODUÇÃO

A soja *Glycine max* L. (Merrill) é uma cultura milenar cultivada mundialmente e com origem na região da Manchúria, Leste da Ásia, China (BONATO et al., 1987). Atualmente, a soja é considerada um dos principais produtos de exportação do Brasil e uma das principais *commodities* do mundo. A sua proteína é muito utilizada na alimentação animal e seu óleo na alimentação humana. Isto se deve ao fato da crescente participação da soja na alimentação humana e na obtenção de outros produtos como adubos, revestimentos, papel, tintas e até combustível (EMBRAPA,2011).

O Brasil é considerado o segundo maior produtor mundial de grãos de soja, com área cultivada em torno de 57,02% da área total utilizada para plantio no país, ou seja, 33,2 milhões de hectares (CONAB, 2016).

A Região Integrada de Desenvolvimento Econômico do Distrito Federal e Entorno (RIDE) é composta por 22 municípios distribuídos pelos Estados de Goiás (19), Minas Gerais (2) e Distrito Federal. Na RIDE, a soja ocupa grande parte da área agricultável desta região (SUDECO, 2016).

O nematoide-das-galhas radiculares é um dos principais patógenos da soja no Brasil, com destaque para *Meloidogyne javanica*, a espécie mais amplamente disseminada em lavouras de soja no Brasil e, *M. arenaria*, uma espécie muito presente em áreas de cultivo de soja (DIAS et al.,2010)

A determinação de raças fisiológicas para espécies de *Meloidogyne* é importante para a caracterização de populações a serem utilizadas em pesquisas de melhoramento de genética de plantas de soja a este nematoide. E como auxílio à implantação de sistemas de rotação de culturas ao nematoide-das-galhas e posicionamento de cultivar para plantio (FRANZENER et al., 2005).

Testes envolvendo a reação de plantas diferenciadoras a *Meloidogyne* spp. na determinação de raças fisiológicas foram propostos por Taylor e Sasser (1978) e Hartman e Sasser (1985). De acordo com a literatura, *M. arenaria* e *M. hapla* apresentam duas raças fisiológicas e *M. javanica* e *M. incognita* quatro raças, identificadas somente pela reação em plantas hospedeiro-diferenciadoras. Neste teste são utilizadas tradicionalmente as seguintes cultivares diferenciadoras: fumo

NC-95, algodão Deltapine 61, pimentão Califórnia Wonder, melancia Charleston Gray, amendoim Florunner e tomate Rutgers (CHARCHAR , MOITA, 2010)

O termo raça em nematologia é um conceito de população, ou seja, é definido como a capacidade de uma população de uma espécie do nematoide de se reproduzir ou não em um determinado grupo de plantas. A reação positiva ou negativa, em seu conjunto define a raça (MOURA, 1997).

2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi pesquisar a reação de plantas hospedeiro-diferenciadoras para a identificação de raças fisiológicas de cinco populações de *M. javanica* e uma de *M. arenaria*, coletadas em áreas de cultivo de soja da RIDE.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A cultura da soja

A soja, *Glycine max* L.(Merril), é uma planta pertencente a classe das dicotiledôneas, família Leguminosae e subfamília *Papilionoides* (BORBA, 2010). Segundo a literatura, o centro de origem da soja é o Leste asiático, região da Manchúria, na China. Durante cinco mil anos na China, a soja sofreu processo de domesticação de onde foi introduzida nos Estados Unidos da América (BONATO et al.,1987).

No século XX, na América do Norte, a soja passou a ser cultivada comercialmente o que contribuiu para um rápido aumento na produção devido ao desenvolvimento das primeiras cultivares comerciais. No Brasil, a soja foi introduzida por imigrantes japoneses em 1908. Porém, a expansão da área cultivada ocorreu nos anos 70, com o interesse crescente da indústria de óleo e o aumento da demanda no mercado internacional (REIS et al., 2007).

As características botânicas da soja incluem um sistema radicular pivotante, o qual é caracterizado por uma raiz principal bem desenvolvida e numerosas raízes secundárias, as quais são colonizadas por bactérias noduladoras e fixadoras de nitrogênio atmosférico (HUNGRIA et al.,2001

O caule é herbáceo, ereto, porte variável de 0,60 cm a 1,50 m, bastante ramificado, com ramos inferiores mais alongados e a ramificação formando ângulos variáveis com a haste principal. As folhas são alternadas, longas, pecioladas, compostas de três folíolos ovalados ou lanceolados, de comprimento variável entre 0,5 a 12,5 cm. Na maioria das variedades comerciais, as folhas amarelecem a medida que os frutos amadurecem e caem, juntamente com o amadurecimento das vagens. As flores nascem em racínios curtos, auxiliares de terminais, geralmente com 9 a 10 flores cada um, de coloração branca, amarela ou violácea, dependendo da variedade. Os frutos são vagens achatadas, pubescentes, de cor cinza, amarela palha ou preta, dependendo da variedade. Encerram duas a cinco sementes e nascem, geralmente, em agrupamento de três a cinco, de modo que se pode encontrar até 400 vagens por planta (BORBA, 2010).

A soja é uma cultura que sofre forte influência do ambiente em relação ao período de luminosidade ou fotoperíodo. O fotoperíodo afeta o início da floração, e conseqüentemente, a duração do ciclo da soja. Durante a fase vegetativa, em regiões ou épocas do ano em que o fotoperíodo é mais curto, há a tendência de se induzir o florescimento precoce com conseqüente queda de produção, devido o porte reduzido da planta (GOMES, 1990).

Com o intuito de amenizar problemas causados pelo fotoperíodo, melhoristas utilizam o período juvenil longo para retardar o florescimento em dias curtos. Durante a fase juvenil, a planta de soja não floresce, mesmo quando é submetida ao fotoperíodo indutivo, assim permitindo maior crescimento vegetativo da planta e evitando queda da produção (BORÉM, 2005).

As cultivares brasileiras de soja de modo geral, tem ciclo entre 100 e 160, e com isso são classificadas em grupos de maturação superprecoce, precoce, semiprecoce, médio, semitardio e tardio dependendo da região. A altura da planta depende da interação da época de semeadura e da cultivar. O crescimento da soja é diretamente correlacionado com o porte da planta, que pode ser classificado como indeterminado, semideterminado e determinado (SEDIAYAMA et al., 2015).

Atualmente, a soja é considerada um dos principais produtos de exportação do Brasil e uma das principais *commodities* do mundo. A sua proteína é grandemente utilizada na alimentação animal e seu óleo na alimentação humana. Isto se deve ao fato da crescente participação na alimentação humana e na obtenção de outros produtos como adubos, revestimentos, papel, tintas e até combustível (EMBRAPA, 2011).

A produção de soja no mundo atingiu na safra 2015/2016, 312,362 milhões de toneladas em área plantada de 119,732 milhões de hectares. Nesta safra, os EUA produziram 106,934 milhões de toneladas de grãos de soja em 33,109 milhões de hectares, com média de 3.230 kg/ha (USDA, 2016). O Brasil é considerado o segundo maior produtor mundial desta oleaginosa, sendo responsável por 57,02% da área cultivada no país de um total de 33,2 milhões de hectares e produtividade de 95,4 milhões de toneladas na safra 2015/2016 (CONAB, 2016).

Segundo dados da Conab (2016), a região Centro-Oeste é a principal região produtora de soja no país com uma área plantada em torno de 14 milhões de hectares e produtividade de 2.848 kg/ha (Figura 1).

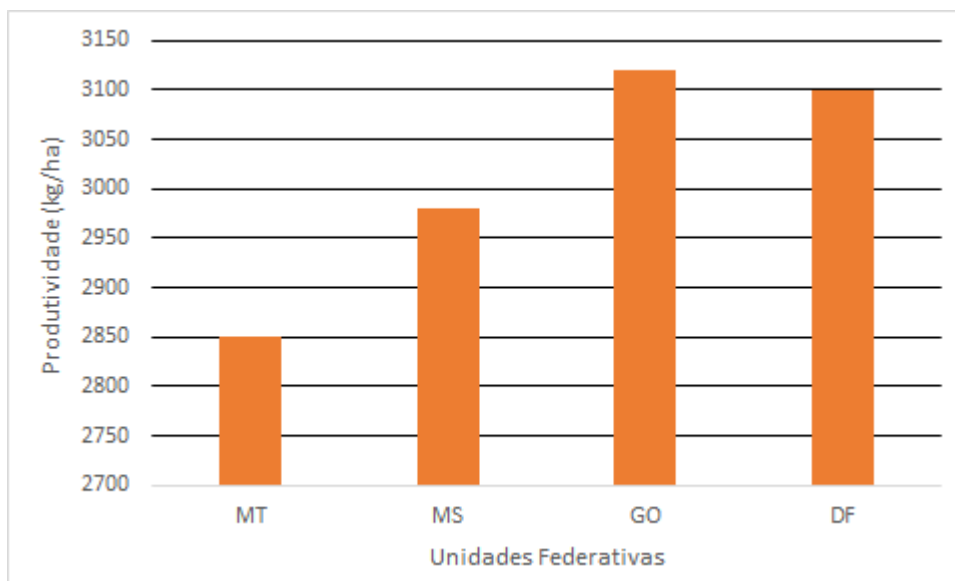


Figura 1. Produtividade kg/ha dos estados do Centro-Oeste.

Fonte: CONAB

Apesar da boa adaptação edafoclimática às diferentes regiões brasileiras, a soja enfrenta vários problemas que afetam a sua produtividade, dentre eles os fitossanitários. Os patógenos mais comuns e que devem ser destacados são a ferrugem asiática, o mofo branco e os nematoides, os quais causam perdas econômicas relevantes à produção final da soja no Brasil (EMBRAPA, 2013).

3.2 Patógenos da cultura da soja

Uma das doenças mais severas que incidem na cultura da soja é a ferrugem asiática, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* (Syd. & P. Syd., 1914) com danos que variam de 10 a 90% nas diversas regiões produtoras onde a doença ocorre (SINCLAIR; HARTMAN, 1999; YORINORI et al., 2005).

A podridão branca da haste ou mofo branco, causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib. de Bary, 1884), é uma das doenças mais antigas da cultura da soja, que ocorre em diversas regiões produtoras, e esta se expandindo para as regiões de alta altitude no Cerrado (EMBRAPA, 2011).

Em relação aos nematoides fitoparasitas, mais de 100 espécies, envolvendo cerca de 50 gêneros, foram associados aos cultivos de soja em todo o mundo. No

Brasil, as espécies que causam perdas econômicas mais relevantes são *Meloidogyne javanica* Treub 1885, *M. incognita* Kofoid & White, 1919, *M. arenaria* Neal, 1889, *Heterodera glycines* Ichinohe, 1915, *Pratylenchus brachyurus* Godfrey, 1929 Filipjev & S. Stekhoven, 1941 e *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940 (FERRAZ, 2001). Em soja no Brasil, *M. javanica*, *P. brachyurus* e *H. glycines* são as espécies mais amplamente disseminadas (FRANZENER et al., 2005).

3.3 O gênero *Meloidogyne*

Os nematoides desse gênero são conhecidos como nematoides-das-galhas radiculares devidos as galhas terminais e intercalares induzidas por todo o sistema radicular das plantas infectadas (ASMUS, 2001). Além das galhas radiculares, sintomas reflexos podem ser observados na parte aérea das plantas infectadas como folha “carijó”, devido a infecção por *Fusarium solani*, clorose de folhas, redução de porte das plantas infectadas e redução da produção (EMBRAPA, 2004).

O ciclo biológico completa-se entre 24 a 35 dias, sendo a faixa ideal de temperatura de 25 a 30 °C. O ciclo de vida tem início com os ovos envoltos em uma massa gelatinosa que os protege da desidratação e do ataque de inimigos naturais (MOENS et al., 2009). As massas de ovos podem ser internas ou externas em que cada massa pode ter de 400 a 500 ovos (BERGAMIN FILHO et al., 1995).

Dentro do ovo encontra-se o juvenil de 1° estágio (J1) que passará por uma ecdise e se tornará juvenil de 2° estágio (J2) antes do ovo eclodir (MOENS et al., 2009). Após a eclosão, o J2 encontra-se em sua fase infecciosa e migra pelo solo até encontrar a raiz do hospedeiro. Após a penetração da raiz, esse migra intercelularmente até o cilindro vascular aonde induzem a formação de sítios de alimentação conhecidos como células gigantes. Com a contínua divisão das células parenquimáticas do cilindro vascular e do córtex tem a origem da formação da galha, que geralmente é formada com a contribuição de mais um nematoide da mesma região (CARES et al., 2006).

Ao atingir o cilindro vascular o nematoide torna-se sedentário e passa por três ecdises (J2-J3, J3-J4 e J4-adulto). A última ecdise (J4) dá origem ao nematoide adulto, com estilete. A maior parte da população é de fêmeas, de formato piriforme, branco leitosa e providas de “pescoço”, visível a olho nu (EISENBACK et al., 1991).

Os machos de corpo vermiforme sofrem a última ecdise deixam a raiz e não se alimentam mais (CARES et al., 2006).

As espécies de maior importância econômica apresentam reprodução partenogenética mitótica onde não ocorre a formação de gameta feminino, excluindo a possibilidade de reprodução por anfimixia mesmo havendo machos na população (CASTAGNONE-SERENO, 2006).

3.3.1 *Meloidogyne javanica* e *M. arenaria*

As espécies *M. javanica* e *M. arenaria* são disseminadas mundialmente e apresentam um amplo círculo de hospedeiras, o que dificulta a adoção de sistemas de rotação, uma vez que estas parasitam plantas pertencentes a diferentes famílias botânicas. Essas espécies apresentam raças fisiológicas, sendo quatro raças para *M. javanica* e duas raças para *M. arenaria* (HARTMAN e SASSER, 1985). A presença de raças fisiológicas foi relatada em outras espécies como *M. incognita* (CARNEIRO et al., 2003), *M. hapla* Chitwood (WOFFORD, 1989) e *M. chitwoodi*. (MOJTAHEDI et al., 1988).

O termo raça fisiológica é definido como a habilidade de uma determinada população em parasitar determinadas plantas hospedeiras (TIHOHOD, 1989a). A identificação de raças fisiológicas em *Meloidogyne* é baseada na reação positiva ou negativa de plantas hospedeiro-diferenciadoras à infecção por *Meloidogyne* spp. (HARTMAN e SASSER, 1985). A determinação de raças de *Meloidogyne* spp. auxilia na escolha de cultivares resistentes a raças específicas de uma determinada região (FRANZENER et al., 2005).

Além das raças fisiológicas, existem também as raças cromossômicas. Segundo Moura (1996), as raças cromossômicas apresentam variações no número de cromossomos, em núcleos de formas haplóides e diplóides e foram detectadas em *M. incognita*, *M. arenaria* e *M. hapla*. A espécie *M. arenaria* apresenta duas raças cromossômicas. Raça A com (2n=50-56) e raça B (2n=32-36) (EISENBACK et al., 1981).

A diagnose dessas espécies pode ser realizada por meio de técnicas morfológicas, moleculares e pela combinação de ambas. Uma das técnicas mais empregadas na diagnose de espécies de *Meloidogyne* é a eletroforese de

isoenzimas. Dentre as isoenzimas presentes em *Meloidogyne*, a esterase e a malato desidrogenase são as mais usualmente detectadas por essa técnica, isso ocorre devido à facilidade de diferenciação das espécies. A espécie *M. javanica* apresenta os fenótipos de esterase J2, J2 A e J3 e *M. arenaria* apresenta A2, A1N1, A2N3 E A2N1 (CARNEIRO et al., 2008).

3.4 Região Integrada de Desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno (RIDE)

A Região Integrada de Desenvolvimento Econômico do Distrito Federal e Entorno (RIDE) foi criada pela Lei Complementar n.º 94, de 19 de fevereiro de 1998, e regulamentada pelo Decreto n.º 7.469, de 04 de maio de 2011, para efeitos de articulação da ação administrativa da União, sendo composta por 22 municípios distribuídos pelos Estados de Goiás (19), Minas Gerais (2) e Distrito Federal (Figura 2). Na RIDE, a agricultura contribui com 1% do Produto Interno Bruto (PIB), com destaque para os municípios de Cristalina, Unai e o Distrito Federal e Luziânia. (SUDECO, 2016)

Devido à sua reduzida dimensão territorial, o Distrito Federal conta com 125.313 ha destinados à agricultura, sendo 10 mil hectares irrigados. A base agrícola do Distrito Federal se concentra nas Regiões Administrativas do Paranoá (PAD-DF) e Planaltina, esta última com os núcleos rurais de Rio Preto, Tabatinga e Taquara. A cultura da soja ocupa a maior área plantada (59 mil ha), seguida pela cultura do milho com 47,6 mil ha, feijão 14,5 mil ha e sorgo 5,2 mil ha (COOPA-DF, 2015).



Figura 2. Mapa da Região Integrada de Desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno (RIDE). Fonte: <http://www.circuitomt.com.br/editorias/geral/13083-explosao-demografica-e-uma-das-principais-preocupacoes-do-entorno.html>

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local do Experimento

O ensaio em vasos foi realizado na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, (UnB). Os trabalhos envolvendo a identificação e quantificação de nematoides foi realizado no Laboratório de Nematologia, localizado no Departamento de Fitopatologia, do Instituto de Biologia IB-UnB.

4.2 Obtenção de populações de *M. javanica* e *M. arenaria* e reprodução em tomateiro

As cinco populações de *M. javanica* foram coletadas nos municípios Cabeceiras-GO, Água Fria-GO e Buritis-MG e a população de *M. arenaria* em Cabeceira Grande-MG, todos integrantes da RIDE. As populações coletadas foram reproduzidas em tomateiro cv. Santa Clara. Foram mantidas em casa de vegetação, com controle de umidade e temperatura variando de 20 a 35 °C.

4.3 Identificação de *Meloidogyne* spp.

As populações de *M. javanica* e *M. arenaria* foram identificadas pelo fenótipo das esterases segundo metodologia proposta por Alfenas et al. (1998). Fêmeas de *Meloidogyne* foram maceradas em 10 µL de solução extratora. A corrida eletroforética foi realizada em aparelho vertical modelo MGV-202 (Biosystems), com gel de poliacrilamida na concentração de 8,23%. O gel foi colorido em solução contendo os corantes FAST BLUE RR e α -naftil acetato e o padrão de bandas fotodocumentado (Figuras 3 e 4).

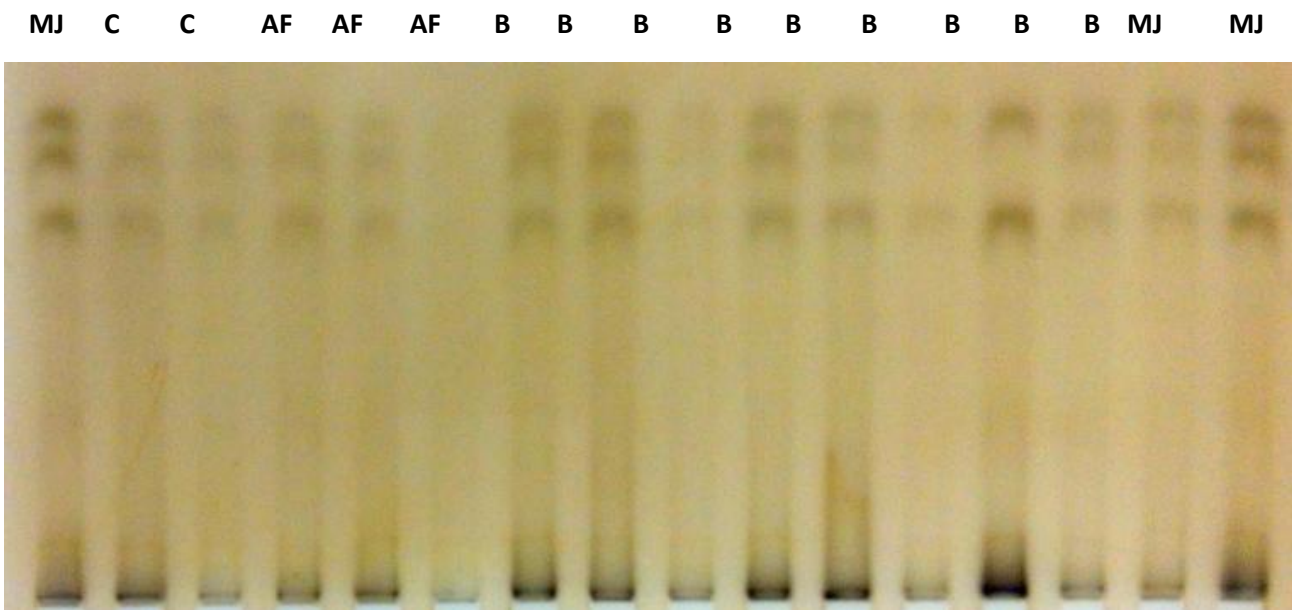


Figura 3. Gel de poliacrilamida das populações de *M.jav* com fenótipo Esterase J3 da RIDE. Sendo, *Meloidogyne javanica* (MJ) Cabeceiras (C), Água Fria (AF), Buritis (B).

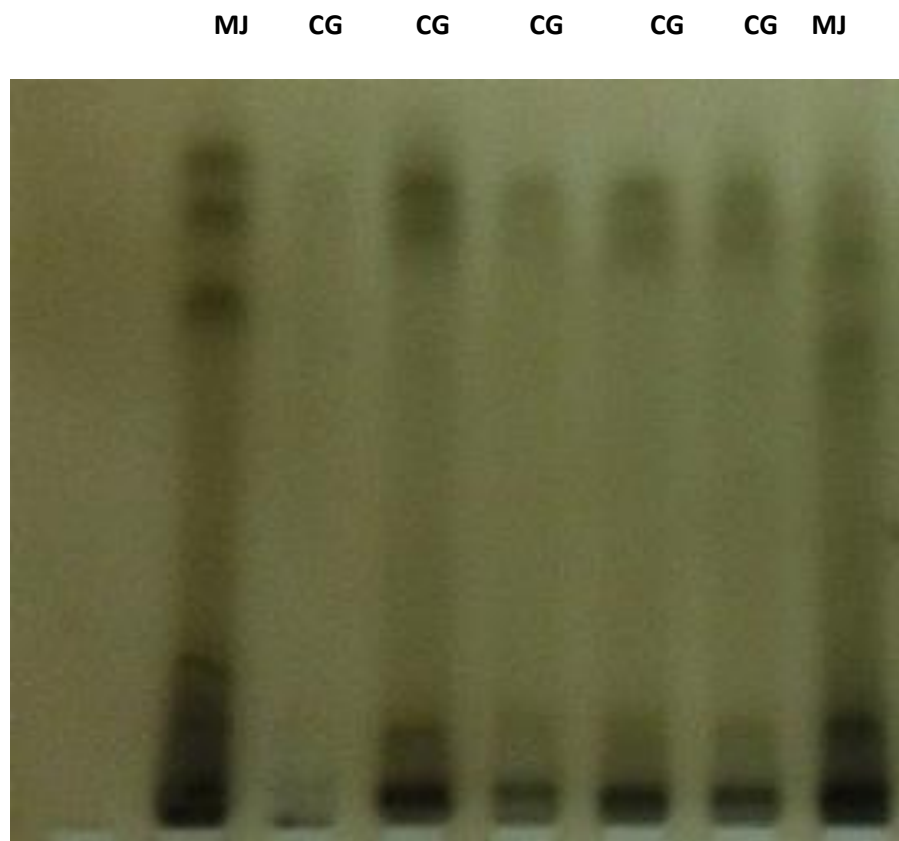


Figura 4. Gel de poliacrilamida da população de *M. arenaria* com fenótipo Esterase A2 da RIDE. *Meloidogyne javanica* (MJ), Cabeceira Grande (CG).

4.4 Extração de ovos e J2

Para a extração de ovos e J2 (Juvenil de 2º estágio) foi utilizada a técnica de Coolen e D'herde (1972). Raízes de tomateiro foram cortadas em pedaços e trituradas em liquidificador contendo solução de hipoclorito de sódio 0,5% por 30 segundos em baixa rotação. A solução foi passada em um conjunto de peneiras de 45 mesh sobre 150 mesh e sobre 500 mesh. O produto retido na peneira de 400 mesh foi depositado em béquer com auxílio de uma pisseta com água.

4.5 Semeadura cultivo e inoculação de plantas diferenciadoras

Sementes de plantas diferenciadoras foram germinadas em células individuais de bandejas de isopor contendo substrato estéril. Quando as plantas atingiram três folhas definitivas foram retiradas das bandejas e transplantadas em sacos plásticos com capacidade para 3 Kg de substrato. Utilizou-se substrato autoclavado composto de solo, areia e composto Plantmax na proporção de 1:3:1. Plantas individuais com 30 dias da semeadura ou quarta folha definitiva foram inoculadas com 5.000 ovos de *Meloidogyne*. Foram inoculados 3 mL de inóculo por saco plástico, junto ao sistema radicular das plantas.

O ensaio seguiu o delineamento inteiramente causalizado em esquema fatorial 6 (populações) X 6 (cultivares hospedeiro diferenciadoras) X 4 repetições. Utilizou-se como testemunha positiva tomateiros, cultivar Santa Clara. As plantas inoculadas foram mantidas em casa-de-vegetação na Estação Experimental de Biologia a temperatura de 27 °C e Umidade relativa de 60% (Figura 5).



Figura 5. Plantas hospedeiro-diferenciadoras inoculadas com *M. javanica* e *M. arenaria* e mantidas em casa de vegetação.

4.6 AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL

A avaliação ocorreu aos 60 dias após a inoculação, tendo-se adotado como variáveis o índice de galhas e de massas de ovos/cultivar diferenciadora/população do nematoide (TAYLOR e SASSER, 1978) (Quadro 1). E contagem das massas de ovos, pelo método de coloração de massas de ovos de *Meloidogyne* spp. com fucsina ácida (SILVA et al., 1988). A reação de suscetibilidade (+) ou resistência (-) seguiu escala de notas proposta por Hartman e Sasser (1985) (Quadro 1). O fator de reprodução (FR) foi calculado pela fórmula $FR = Pf/Pi$, onde Pf (população final) e Pi (população inicial). O número de ovos foi estimado por contagem em lâmina de Peter com o auxílio de um microscópio ótico com aumento de 40 vezes.

Quadro 1. Escala para avaliação do Índice de Galhas e de Massa de Ovos. Reação (+), hospedeiro resistente; reação (-), hospedeiro suscetível

ÍNDICE GALHAS E MASSAS DE OVOS REAÇÃO		
0	0	-
1	1-2	-
2	3-10	-
3	11-30	+
4	31-100	+
5	>100	+

Quadro 2. Avaliação da reação de plantas hospedeiro diferenciadoras utilizadas na identificação de raças de populações de *Meloidogyne javanica* e *M. arenaria*. Reação (+), hospedeiro resistente; reação (-), hospedeiro suscetível (Fonte: HARTMAN e SASSER, 1985).

<i>M. javanica</i>	Fumo	Algodão	Pimentão	Melancia	Amendoim	Tomate
Raça 1	+	-	-	+	-	+
Raça 2	+	-	+	+	-	+
Raça 3	+	-	-	+	+	+
Raça 4	+	-	+	+	+	+
<i>M. arenaria</i>						
Raça 1	+	-	+	+	+	+
Raça 2	+	-	-	+	-	+

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As populações utilizadas neste trabalho apresentaram os fenótipos EST-J3 para *M. javanica* e EST-A2 para *M. arenaria*. E as populações de *M. javanica* utilizadas foram coletadas em cultivo de soja nos municípios de Cabeceiras-GO, Água Fria-GO e Buritis-GO e a população de *M. arenaria* em Cabeceira Grande-MG (Tabela 1).

Tabela 1. Identificação Fenótipo de Esterase das populações de *Meloidogyne javanica* e *M.arenaria*

Municípios	<i>M. javanica</i>	<i>M. arenaria</i>
Cabeceiras-GO	EST-J3	-
Água Fria-GO	EST-J3	-
Buritis-MG	EST-J3	-
Cabeceira Grande - MG	-	EST-A2

As plantas diferenciadoras utilizadas para a determinação de raças fisiológicas de *M. javanica* e *M. arenaria* não foram as mesmas relatadas por Hartman e Sasser (1985) devido à dificuldade de se encontrar sementes de cultivares a muito tempo retiradas do mercado. Portanto, algumas cultivares utilizadas como plantas diferenciadoras foram substituídas por outras atualmente comercializadas como tomate Rutgers, padrão de suscetibilidade, substituído por tomate cv. Santa Clara e amendoim Florunner, substituído por amendoim cv. Tatu. As demais cultivares diferenciadoras foram mantidas (pimentão Califórnia Wonder, melancia Charleston Gray, algodão Deltapine 61 e fumo NC 95) (Tabela 2).

Com base na reação das plantas diferenciadoras, detectou-se raça 1 para as 6 populações de *M. javanica* testadas e raça 2 para a população de *M. arenaria*. O padrão de suscetibilidade, tomateiro cv. Santa Clara apresentou valores de Fator de reprodução (FR) que variaram de 2 a 41, demonstrando diferenças na agressividade das populações testadas e que o inóculo utilizado para as diferentes populações foi viável, pois o FR produzido comportou-se a 1,0 para todas as populações testadas (Tabela 2).

Tabela 2. Avaliação de plantas hospedeiro-diferenciadoras inoculadas com diferentes populações de *Meloidogyne javanica* e *M. arenaria* IG = índice de galhas; IMO = índice de massa de ovos. Notas: 0 = nenhuma galha ou massa de ovos; 1 = 1-2 galhas ou massas de ovos; 2 = 3-10; 3 = 11-30; 4 = 31-100; 5 ≥ 100 galhas ou massas de ovos (HARTMAN e SASSER, 1985). FR = Fator de reprodução

Plantas Diferenciadoras	População de Meloidogyne	Peso(g)	IG	IMO	Ovos/g de raiz	FR
Tomate Santa Clara	Cabeceiras	14,2	4	4	11050	6,2
	Cabeceiras	13,1	5	5	37900	7,6
	Água Fria	14,2	5	5	46300	9,3
	Buritis	16,2	5	5	208378	41,7
	Buritis	13,2	5	5	14300	2,9
	Buritis	8,8	5	5	85773	17,7
	Buritis	22,5	5	5	84200	16,8
	Cabeceira Grande	17,1	5	5	202600	40,5
Amendoim Tatu	Cabeceiras	32,4	0	0	0	0
	Cabeceiras	32,2	0	0	0	0
	Água Fria	29,7	0	0	0	0
	Buritis	35,4	0	0	0	0
	Buritis	34,2	0	0	0	0
	Buritis	33,4	0	0	0	0
	Buritis	31,5	0	0	0	0
	Cabeceira Grande	35,5	0	0	0	0
Algodão Delta Pine 16	Cabeceiras	47,0	0	0	0	0
	Cabeceiras	35,5	0	0	0	0
	Água Fria	42,3	0	0	0	0
	Buritis	54,7	0	0	0	0
	Buritis	41,4	0	0	0	0
	Buritis	40,8	0	0	0	0
	Buritis	52,3	0	0	0	0
	Cabeceira Grande	48,7	0	0	0	0
Fumo NC95	Cabeceiras	41,6	0	0	0	0
	Cabeceiras	39,5	5	5	42150	8,4
	Água Fria	22,5	5	5	46300	9,3
	Buritis	33,7	5	5	63850	12,8
	Buritis	17,9	5	3	1486	2,9
	Buritis	16,7	5	5	12650	2,5
	Buritis	28,5	5	4	84200	16,8
	Cabeceira Grande	13,7	5	4	32450	6,5
Melancia Charleston Gray	Cabeceiras	1,7	3	2	1250	0,3
	Cabeceiras	1,2	2	2	2800	0,6
	Água Fria	2,1	3	2	4150	0,8
	Buritis	2,1	3	3	3407	0,7
	Buritis	1,9	4	3	2350	0,5
	Buritis	1,7	4	4	15350	3,1
	Buritis	1,3	2	2	3500	0,7
	Cabeceira Grande	3,5	4	4	6370	1,3
Pimentão Wonder	Cabeceiras	81,0	0	0	0	0
	Cabeceiras	76,0	0	0	0	0
	Água Fria	67,8	0	0	0	0
	Buritis	56,4	0	0	0	0
	Buritis	48,0	0	0	0	0
	Buritis	80,7	0	0	0	0
	Buritis	68,1	0	0	0	0
	Cabeceira Grande	73,5	0	0	0	0

A reação das plantas diferenciadoras algodão Deltapine 61, amendoim cv. Tatu e pimentão Califórnia Wonder foi de resistência, ou seja, nenhuma das populações de nematoides testadas produziram galhas ou massa de ovos nessas diferenciadoras. Como para *M. javanica* e *M. arenaria* as hospedeiras que podem apresentar variação (reação positiva ou negativa) são pimentão e o amendoim, a reação negativa para ambas as hospedeiras, determinou a raça 1 para as populações de *M. javanica* e a raça 2 para a população de *M. arenaria* (Quadro 2).



Figura 6. Plantas Diferenciadoras: algodão cv. Delta Pine 61 (A), pimentão cv. Wonder (B) e amendoim cv. Tatu (C).



Figura 7. Raízes de fumo cv. NC95 (A), melancia cv. Charleston Gray (B) e tomate cv. Santa Clara (C).

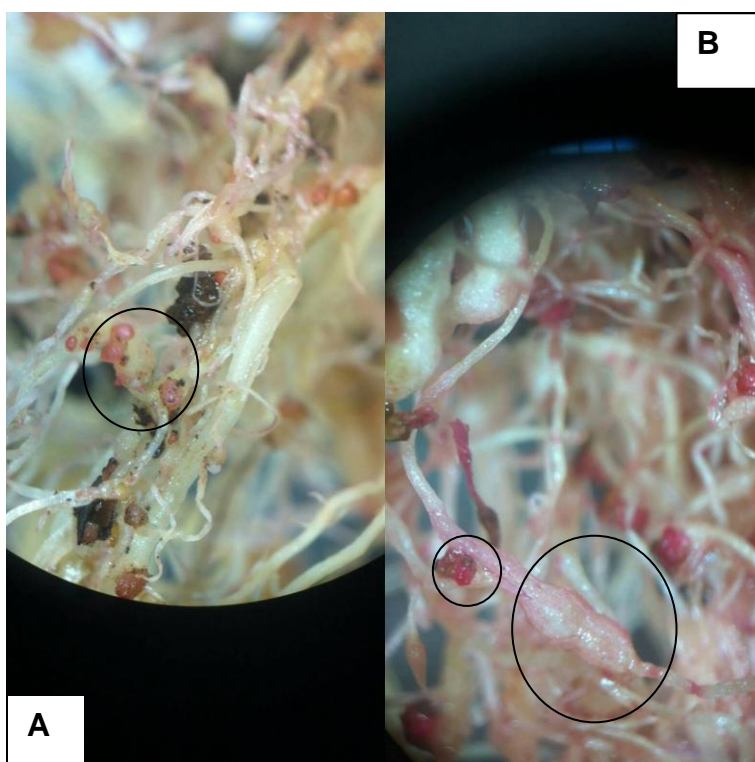


Figura 8. Raízes de fumo (A) e melancia (B) infestadas de galhas e massas de ovos coloridas com fucsina ácida.

A formação de galhas e de massas de ovos em melancia cv. Charleston Gray não foi satisfatória para algumas populações testadas, ou seja, algumas reações foram negativas (IG=2 e IMO=2). Isto pode ser explicado por conta do desenvolvimento não satisfatório das plantas devido à forte incidência de ácaros, os quais não tiveram controle efetivo frente à aplicação semanal de acaricidas. Como a reação em melancia das quatro raças de *M. javanica* e das duas raças de *M. arenaria* anteriormente relatadas em literatura são positivas, esta hospedeira não é determinante para a definição de raça para essas espécies. No entanto, há espécies de *Meloidogyne* que não infectam melancia, como *M. hapla* (PONTE et al.,1975). Por isso, melancia é mantida como hospedeira diferenciadora para *Meloidogyne* spp.

O conhecimento prévio da raça fisiológica presente em uma determinada área pode auxiliar na recomendação de plantas para rotação com uma cultura suscetível, bem como auxiliar em programas de melhoramento genético com vistas à resistência de plantas a nematoides (FREITAS et al, 2006).

Pires *et al.* (2008) detectou a raça 3 de *M. incognita* em levantamento realizado em algodoeiros cultivados em diferentes municípios do noroeste paranaense. As populações do nematóide foram mantidas para testes de resistência genética de genótipos de algodoeiro.

Considerando as raças 1 e 2 de *M. javanica* e *M. arenaria*, respectivamente, algodoeiro e amendoim poderiam ser utilizados em rotação com soja (DIAS et al., 2007). Em áreas de cultivo de cana-de-açúcar, amendoim tem sido muito utilizado em rotação por ocasião da renovação de canaviais, especialmente em áreas infestadas com nematoides (AMBROSANO et al., 2011).

Segundo Ferraz et al. (2010), a população de *M. arenaria* raça 2 em uma determinada área pode ser reduzida mediante o cultivo de plantas não hospedeiras como pimentão (primavera), agrião (verão) e couve manteiga (o ano todo). Essas culturas dificilmente serão utilizadas em áreas amplas de soja, porém, são opções para áreas menores de cultivo de hortaliças.

Trabalhos envolvendo a resistência genética de plantas a determinadas raças de nematoides têm sido realizados objetivando a seleção de cultivares resistentes para plantio em áreas infestadas (FIGUEIREDO,2008).

Em cafeeiro, Lordello e Lordello (1987) testaram a resistência de sete linhagens de *Coffea arabica* e de duas linhagens de *Coffea canephora* as 4 raças de

M. incognita. Os autores concluíram que as raças 1 e 2 foram mais agressivas que as raças 3 e 4 e que cultivares de cafeeiro Catuaí foram menos suscetíveis que os demais.

De acordo com Martinello et al. (2001) 22 genótipos de quiabeiro foram desafiados contra populações de *M. incognita* raça 2 e de *M. javanica* com vistas à seleção de genótipos resistentes. Os autores relataram que dos genótipos testados apenas um se mostrou tolerante aos nematoides.

Em soja, Mendes e Rodriguez (2000) testaram a resistência de genótipos de soja às 4 raças fisiológicas de *M. incognita* e a uma população de *M. javanica*. Os resultados comprovaram apenas tolerância à *M. javanica*. Para *M. incognita* houve diferença na reação das cultivares comerciais de acordo com a raça inoculada.

Genótipos de algodoeiro foram desafiados contra *M. incognita* raça 3 no Paraná com seleção de genótipos resistentes (PIRES, 2008). Em outro levantamento realizado em cafeeiros no Paraná foram detectadas as raças 1 e 4 de *M. incognita*, esta última em baixa frequência de ocorrência, além de *M. paranaensis* (KRZYZANOWSKI et al., 2001).

Apesar de *M. javanica*, juntamente com *M. incognita*, ser um dos principais nematoides parasitas da soja no Brasil, poucos relatos de raças fisiológicas estão disponibilizados na literatura. Carneiro et al (2003) relataram pela primeira vez a raça 4 de *M. javanica*, capaz de parasitar amendoim forrageiro, *Arachis pintoi*, além de pimentão, fumo, melancia e tomate. Considerando as quatro raças de *M. javanica*, o algodoeiro seria uma boa opção para rotação devido ser imune a todas as raças desse nematoide.

A identificação de raças de *Meloidogyne* tem auxiliado os melhoristas na seleção de genótipos resistentes e contribuído para a implantação de sistemas de rotação de culturas viáveis às raças presentes em campo. Os resultados obtidos nesse trabalho, relativos à identificação de raças de *Meloidogyne*, são pioneiros para a RIDE-DF e servirão de base para outros levantamentos de nematoides nesta região e para a seleção de genótipos de soja resistentes aos nematoides detectados.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram as seguintes conclusões:

- ✓ *Meloidogyne javanica* raça 1 foi detectada nos municípios de Cabeceiras-GO, Água Fria-GO e Buritis-MG.
- ✓ *Meloidogyne arenaria* raça 2 foi detectada no município de Cabeceira Grande-MG.
- ✓ Algodão, pimentão e amendoim podem ser recomendados para rotação à soja nos municípios de ocorrência.
- ✓ Cultivares de soja resistentes a raça 1 de *M. javanica* e a raça 2 de *M. arenaria* podem ser recomendados em áreas infestadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. Plant Pathology. p. 703 – 717, 1988
- AMBROSANO, E.J.; CANTARELLA, H.; AMBROSANO, G.M.B.; SCHAMMASS, E.A.; DIAS, F.L.; ROSSI, F.; TRIVELIN, P.C.O.; MURAOKA, T.; SACHS, R.C.C.; AZCON, R. Produtividade da cana-de-açúcar após o cultivo de leguminosas. 2011
- ASMUS, G. L. Danos causados à cultura da soja por nematoides do gênero *Meloidogyne*. In: SILVA, J. F. V. (Org.). Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja. Londrina: Embrapa Soja/Sociedade Brasileira de Nematologia.p. 39-62. 2001
- BONATO, E.R.; BONATO, A.L.V. A soja no Brasil: história e estatística. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 61p. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 21). 1987.
- BORBA, Z.M.S. Análise dos danos causados pelas formigas cortadeiras à cultura da soja no município de Rio Largo – AL Universidade Federal de Alagoas – UFA, Rio Largo, 2010. (Trabalho de conclusão de curso de Agronomia). 2010.
- BORÉM, A. Melhoramento de espécies cultivadas. 2 ed. Viçosa: UFV 969p. 2005
- CANTO-SÁENZ, M. The nature of resistance to *Meloidogyne incognita*. In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. An advanced treatise on *Meloidogyne*. Vol 1: biology and control. Raleigh, NC, USA: North Carolina State University Graphics, 1985. p. 225-231.
- CARES, J.E.; BLUM, L.E.B.; ANDRADE, E.P. Nematologia vegetal: uma introdução. In: BLUM, L.E.B. O estudo das doenças de plantas. Brasília: Ed Otimismo, 206 Pág 258.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; MARCILENE, F.A. DOS SANTOS; ALMEIDA, R.M.MOTA; C.A.; GOMES, M.M.C.A., MYRIAN S.T. DIVERSITY OF MELOIDOGYNE ARENARIA USING MORPHOLOGICAL, CYTOLOGICAL AND MOLECULAR APPROACHES. NEMATOLOGY, VOLUME 10, ISSUE 6, PAGES 819 – 834 PUBLICATION, 2008.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; CARNEIRO, R.G.; DAS NEVES, D.I. & ALMEIDA, M.R. Nova raça de *Meloidogyne javanica* detectada em *Arachis pintoii* no Estado do Paraná. Nematologia Brasileira, v. 27, n. 2, p. 219-221. 2003
- CASTAGNONE-SERENO, P. Genetic variability and adaptive evolution in parthenogenetic root-knot nematodes. Heredity. 96:282–289.2006
- CHARCHAR, M.J.; MOITA, W.A. Cultivo e incorporação de leguminosas, gramíneas e outras plantas no controle de *Meloidogyne incognita* raça 1 em cenoura 'Nantes'. 2010
- CONAB. 12º Levantamento – Safra 2015/16 .Disponível em <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&>

COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent, State Nematology and Entomology Research Station, 77p., 1972

COOPA-DF- PROGRAMA DE ASSENTAMENTO DIRIGIDO DO DISTRITO FEDERAL. 2015. Disponível em <http://www.coopadf.com.br/o-pad-df> 24/10/2016.

DIAS, P.W.; GARCIA, A.; SILVA,V.F.J. Nematoides em Soja: Identificação e Controle. Circular Técnica 76.Londrina,PR.Embrapa Soja 2010

DIAS, W.P.; RIBEIRO, N. R.; LOPES, I.O.N.; GARCIA, A.; CARNEIRO, G.E.S.; SILVA,J.F.V. Manejo de Nematode na Cultura da Soja. In: XXVII Congresso Brasileiro de Nematologia 2007. Goiânia. 2007. p. 26-30

EISENBACK, J. D.; TRIANTAPHYLLON, H. H. Root-Knot nematodes: *Meloidogynes* species and races. In: Nickle, W. R. (ed.). Manual of Agricultural Nematology. New York: Marcel Dekker, 1991. cap. 6, p. 191-274.

EMBRABA TRIGO. REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO SUL, 32. 2004, Passo Fundo. Indicações técnicas para a cultura de soja no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina – 2004/2005. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2004. 149 p. html, 3 fig., 50 tab. (Embrapa Trigo. Sistemas de Produção Online,1). Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/sist-prod/soja04/index.htm>.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2004. Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil 2004.Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br>. Consultado em: 24/10/2016 .

EMBRAPA SOJA. Consórcio Antiferrugem. [Londrina, 2013]. Disponível em: <http://www.consorcioantiferrugem.net>. Consultado em:24/10/2016 .

EMBRAPA SOJA. Tecnologias de produção de soja - região Central do Brasil 2012 e 2013. Londrina, 2011. 261p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 15).

ESBENSHADE, P.R. & A.C. TRIANTAPHYLLOU.. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. Journal of Nematology, 22 (1): 10-15. 1990.

EVANS, A.A.F. Reproductive mechanisms. In: Perry, R.N. & Wright, D.J. The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic Nematodes. CABI, Wallingford, p. 133-149. 1998.

FERRAZ, L. C. C.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Ed.). Manual de Fitopatologia, 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres Ltda,1995. v.1,1997 p. 168-201.

FERRAZ, L.C.C.B. As meloidoginoses da soja: Passado, Presente e Futuro. In: Silva, J.F.V. Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja. EMBRAPA Soja, Londrina-PR, 2001. p. 15-34.

FIGUEREDO, A. Caracterização de tipo de raça de populações do nematóide de cisto da soja detectadas no município de Jataí/GO e proximidades por hospedeiros diferenciadores. 2008 . 56f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Uberlândia, UFU, Uberlândia, 2008.

FRANZENER, G.; UNFRIED, J.R.; STANGARLIN, J.R.; FURLANETTO, C. Nematoides formadores de galha e cisto patogênicos à cultura da soja em municípios do Oeste do Paraná. *Nematologia Brasileira*, vol. 29, n. 2, 2005. p.261-265,.

FREITAS, L.G.; LIMA, R.D.; FERRAZ, S. Introdução à Nematologia 3 ed. Viçosa: UFV, 2009 p.83.

GOMES, P. A soja 5 ed. São Paulo. Nobel 1990.p194.

HARTMAN, K.M.; SASSER, J.N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of different al host testand perineal-patternmorphology. In: Barker, K.R.,. Carter.C.C; SASSER, J.N. (Ed). *An Advanced Treatise on Meloidogyne. Methodology*, North Carolina State University Graphics, Raleigh., 1985 p. 69-77.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J; MENDES, I.C . Fixação Biológica de Nitrogênio na Cultura da Soja. Circular Técnica 35.Londrina, PR. Embrapa Soja– 2001

KIMATI, H.; AMORIM, L.; FILHO, A. B.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M.. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. Pg.610-611 Volume 2

KRZYZANOWSKI, A, A.; FIGUEIREDO R.; SANTIAGO D.C.; FAVORET, L. Levantamento de espécies e raças de *Meloidogyne* em cafeeiros no estado do Paraná. In 2º Simpósio de Pesquisas dos Cafés do Brasil, 24-27. Setembro 2000, Vitória, BRASIL. Editado por A.N da Roha, J.L.S.; Rufino, & W.M. Giusti. Embrapa, Brasília DF, Brasil, 2000 p.1175-1181.

LORDELLO, R.R.; LORDDELLO, A.I.L. Avaliação da Resistência de Cafeeiros às Raças de *Meloidogyne Incognita*, 1987.

MARTINELLO, G.E.; LEAL, N.R.; PIMENTEL, J.C. Avaliação da resistência de genótipos de quiabeiro à infestação por *Meloidogyne incognita* raça 2 e *M. javanica*. 2011.

MENDES, M.L.; P.B.N. RODRIGUEZ. Reação de Cultivares de Soja [Glycine Max(L.)Merril] aos Nematoides de Galhas *Meloidogyne javanica* e *M.incognita* Raças 1,2,3 e 4. 2000.

MOENS, M.; PERRY, R. STARR, J. *Meloidogyne* species- a diverse group of novel and important plant parasites. Pp. 483 In: PERRY RN, MOENS M, STARRY JL(eds) *Root-Knot nematodes*. Texas/USA, CAB internacional ,2009 p.1-13.

MOJTAHEDI, H.; SANTO, G.S. & PINKERTON, J.N. Differential response of thor alfafa to *Meloidogyne chitwoodi* races and *M. hapla*. *Journal of Nematology*, vol. 20, 1988. p.410-416.

MOURA, R.M. O gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. Revisão Anual de Patologia, 4: 209-244, 1996.

OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Mededelingen Van de landbouwhogescholen Wageningen, Nederland, v.66, n.4, 1966. p.1-46.

PIRES, E.; SANTANA, H.; NASU, E.G.C.; BELOT, J.L.; FURLANETTO, C. Ocorrência de *Meloidogyne incognita* raça 3 em lavouras de algodão na região Noroeste do Paraná, 2008

Ponte, J.; Fernandes ER.; da Silva AT. Plantas hospedeiras de *Meloidogyne* no estado do Rio Grande do Norte (Brasil). Sociedade Brasileira de Nematologia. Publicação nº 2, 1975.

REIS, G.N.; BIZZI, A.C.; FURLANI, C.E.A.; SILVA, R.P.; LOPES, A.; GROTTA, D.C.C. Avaliação do desenvolvimento da cultura da soja (*Glycine Max* (L.) Merrill) sob diferentes sistemas de preparo. Ciência Agrotécnica. Lavras, 2007 .v.31, n.1, p.228-235.

SASSER, J.N. Pathogenicity, host ranges and variability in *Meloidogyne* species. In: LAMBERTI, F.; TAYLOR, C.E. (Eds): Root – knot nematodes (*Meloidogyne* species). Systematics, biology and control. New York & London, Academic Press, 1979 .p.257-268.

SILVA, G.S.; SANTOS, J.M; FERRA, S. Novo método de coloração de ootecas de *Meloidogyne* sp. Nematologia Brasileira. 1988. p.12:6-7

SINCLAIR, J.B.; HARTMAN, G.L. Soybean rust. In: HARTMAN, G.L.; SINCLAIR, J.B.; RUPE, J.C. (Ed.). Compendium of soy bean diseases. 4.ed. St.Paul: APS, 1999. p.25-26.

SUDECO- Superintendência do Desenvolvimento do Centro-Oeste. Disponível em: <http://www.sudeco.gov.br/ride-df>. Acesso em: 24/10/2016

TAYLOR, A.L. & J.N. SASSER. Biology, Identification and Control of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.). North Carolina State University, Raleigh, 1978.p.111.

TIHOHOD, D. Nematologia Agrícola. Jaboticabal: FCAV-UNESP, 1989. v. 1, 80 p
USDA. Reports. Disponível em: <<http://www.usdabrazil.org.br/home/reports.asp>. Acesso em :24 Out.2016.

WOFFORD, D.S.; GRAY, F.A. e ECKERT, J.W. Pathogenicity of two populations of *Meloidogyne hapla* Chitwood on alfafa and sain foin, 1989 .v. 21, p. 87-91.

WOFFORD, D.S.; GRAY, F.A.; ECKERT, J.W. Pathogenicity of two populations of *Meloidogyne hapla* Chitwood on alfafa and sainfoin 1989 vol. 21, p. 87-91.

Yorinori JT, Paiva WM, Frederick RD, Costamilan LM, Bertagnolli PF, Hartman GE, Godoy CV, Nunes Junior J (2005) Epidemics of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Brazil and Paraguay from 2001 to 2003. Plant Disease .p.675-677.