

Caracterização de um Complexo de Espécies do Nematóide das Galhas Parasitando Arroz Irrigado na Região Sul do Brasil



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
331**

**Caracterização de um Complexo de Espécies
do Nematóide das Galhas Parasitando
Arroz Irrigado na Região Sul do Brasil**

*Vanessa da Silva Mattos
Mayra Renata Cruz Soares
Ana Cristina Meneses Mendes Gomes
Cláudia R. Dias Arieira
Cesar Bauer Gomes
Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Parque Estação Biológica – PqEB – Av. W5 Norte
Caixa Postal 02372
70770-917 Brasília, DF
Fone: (61) 3448-4700
Fax: (61) 3340-3624
www.embrapa.br/fale-conosco/sac
www.embrapa.br/recursos-geneticos-e-biotecnologia

Comitê Local de Publicações

Presidente
Marília Lobo Burlle

Secretária-Executiva
Ana Flávia do Nascimento Dias Côrtes

Membros
Antonieta Nassif Salomão, Diva Maria Alencar Dusi, Francisco Guilherme Vergolino Schmidt, João Batista Teixeira, João Batista Tavares da Silva, Maria Cléria Valadares Inglis, Tânia da Silveira Agostini Costa

Suplentes
*Bianca Damiani Marques Silva
Rosamares Rocha Galvão*

Revisão de texto
João Batista Teixeira

Normalização bibliográfica
Ana Flávia do Nascimento Dias Côrtes

Tratamento das ilustrações e fotos
Cynthia Pereira da Silva

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Cynthia Pereira da Silva

Foto da capa
*Cesar Bauer Gomes (Área infestada por *Meloidogyne graminicola* em Capão do Leão, RS)*

1ª edição (on line)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Caracterização de um complexo de nematoide das galhas parasitando arroz irrigado na região sul do Brasil. / Vanessa da Silva Mattos... [et al.]. – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2017.

28 p. - (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 331).

1. Fenótipo de esterases. 2. *Meloidogyne* spp. 3. *Oryza sativa* (L.). I. Mattos, Vanessa da Silva. II. Soares, Mayra Renata Cruz. III. Gomes, Ana Cristina M.M. IV. Arieira, Claudia R. Dias. V. Gomes, Cesar Bauer. VI. Carneiro, Regina M. D. G. VII. Série.

631.521 – CDD 21.

© Embrapa, 2017

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução.....	8
Material e Métodos	11
Resultados e Discussão	12
Conclusões.....	24
Agradecimentos.....	24
Referências	24

Caracterização de um Complexo de Espécies do Nematóide das Galhas Parasitando Arroz Irrigado na Região Sul do Brasil

Vanessa da Silva Mattos ¹

Mayra Renata Cruz Soares ²

Ana Cristina Meneses Mendes Gomes ³

Claudia R. Dias Arieira ⁴

Cesar Bauer Gomes ⁵

Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro ⁶

Resumo – O arroz é um dos cereais mais produzidos no mundo, e o Brasil destaca-se no mercado orizícola como nono maior produtor e oitavo exportador mundial. O Sul do Brasil detém a maior área cultivada com arroz irrigado do país. Entretanto, a produção pode ser limitada por vários agentes fitopatogênicos, dentre eles o nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.). Dessa forma, o objetivo da pesquisa foi caracterizar diferentes espécies do nematóide das galhas, nas regiões orizícolas dos estados do Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC) e Paraná (PR). As populações obtidas foram identificadas, bioquimicamente, através das isoenzimas esterase (Est) e malato-desidrogenase (Mdh). Detectaram-se seis fenótipos esterásticos (Est) de *Meloidogyne* spp. em 51 populações do RS, 31 de SC e 23 do PR, sendo *M. graminicola* com o fenótipo Est VS1 (Rm: 0,70), *M. javanica*, Est J3 (Rm: 1,0, 1,20, 1,35), *M. oryzae* com fenótipo Est R1 (Rm:1,02), *Meloidogyne* sp.2, Est R2 (Rm: 0,85, 0,91), *Meloidogyne* sp.3, Est R3 (Rm: 0,74, 0,80, 0,82), e um último fenótipo relativo a *Meloidogyne* sp.0 (Est R0, sem banda de esterase). No estado do RS predominou a espécie *M. graminicola*, seguida por *Meloidogyne* sp.2 e *Meloidogyne* sp.3; em SC *M. graminicola*, seguida por

¹ Agrônoma, doutora, bolsista do CNPq na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

² Agrônoma, mestre, bolsista da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

³ Bióloga, mestre, analista da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

⁴ Agrônoma, doutora, professora da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR

⁵ Agrônomo, doutor., pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS

⁶ Agrônoma, doutora, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Meloidogyne sp.0, *M. oryzae*, *M. javanica*, *Meloidogyne* sp.2 e *Meloidogyne* sp.3. No estado do Paraná *Meloidogyne* sp.3 foi a espécie mais distribuída, seguida por *M. graminicola* e por *Meloidogyne* sp.2, e uma única população de *Meloidogyne* sp.0. Marcadores AFLP e RAPD confirmaram a separação em clusters de espécies de acordo com os perfis das esterases. Várias populações apareceram puras ou em misturas de mais de uma espécie. Dessa maneira, fica registrado um complexo de espécies de *Meloidogyne* ocorrendo na cultura do arroz na região sul do Brasil, havendo necessidade de pesquisas avançadas em taxonomia clássica e molecular para identificação dessas espécies.

Termos para indexação: AFLP, fenótipo de esterases, *Meloidogyne* spp., *Oryza sativa* (L.), Paraná, RAPD, Rio Grande do Sul, Santa Catarina.

Characterization of a complex of root-knot nematodes species parasitizing rice in the Southern region of Brazil

Abstract – Rice is one of the most produced cereals in the world, and Brazil is the ninth largest producer and the eighth exporter in the world. Southern Brazil has the largest cultivated area with irrigated rice in the country. However, the production may be limited by several phytopathogenic agents, among them the root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). Thus, the objective of this research was to characterize different populations of the root-knot nematode in the rice growing areas in the states of Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC) and Paraná (PR). The populations obtained were characterized biochemically using the isoenzymes esterase (Est) and malate dehydrogenase (Mdh). Six esterase phenotypes (Est) were detected in 51 populations of *Meloidogyne* spp. from RS, 31 from SC and 23 from PR presenting *M. graminicola* Est VS1 (Rm: 0.70), *M. javanica*, Est J3 (Rm: 1.0, 1.20, 1.35), *M. oryzae* Est R1 (Rm: 1.02), *Meloidogyne* sp.2, Est R2 (Rm: 0.85, 0.91), *Meloidogyne* sp.3, Est R3 (Rm: 0.74, 0.80, 0.82), and finally *Meloidogyne* sp.0 (Est R0, with no esterase band). In the RS state, *M. graminicola* was the most frequent, followed by *Meloidogyne* sp.2 and *Meloidogyne* sp.3. In SC *M. graminicola* was also the dominant, followed by *Meloidogyne* sp.0 and *M. oryzae* and in the PR state the *Meloidogyne* sp.3 was the major species followed by *M. graminicola*, *Meloidogyne* sp.2 and a single population of *Meloidogyne* sp.0. Some populations appeared pure or in mixtures of more than one species. Analyzes with AFLP and RAPD markers confirmed the species clusters according to esterase enzyme profiles. In this way, a complex of *Meloidogyne* species occurring on rice crop in the southern region of Brazil is recorded, and advanced research using classical and molecular taxonomic approaches is essential to determinate the unidentified species.

Index terms: AFLP, fenótipo de esterases, *Meloidogyne* spp., *Oryza sativa* (L.), Paraná, RAPD, Rio Grande do Sul, Santa Catarina.

Introdução

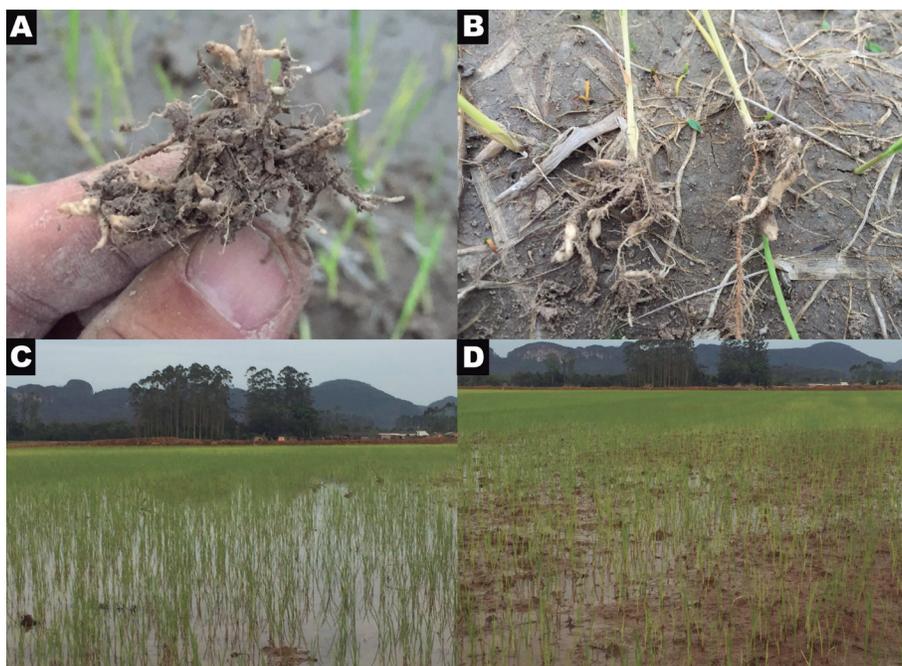
O Brasil cultiva uma área de aproximadamente 2,1 milhões de hectares de arroz (*Oryza sativa* L.) irrigado e destaca-se como o nono maior produtor mundial, com produção de 12,1 milhões de toneladas (Conab, 2017). O Rio Grande do Sul (RS) é o maior produtor nacional, responsável por 65% da produção de arroz, seguido pelo estado de Santa Catarina (SC) que detém 7,3% da produção nacional (Conab, 2017).

A produção de arroz pode ser limitada por vários agentes fitopatogênicos, dentre eles, os nematoides das galhas (*Meloidogyne* Göldi, 1887). Dentre as mais importantes espécies de *Meloidogyne* relatadas no arroz está *M. graminicola* Golden & Birchfield, 1965, detectada no Brasil desde a década de 1990 (Sperandio & Monteiro, 1991). A perda de produção pode chegar a 70% em solos infestados com *M. graminicola* (Bridge et al., 2005). Outras espécies como *M. hainanensis* Liao & Feng, 1995, *M. lini* Yang, Hu & Xu, 1988, *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949, *M. oryzae* Maas, Sanders & Dede, 1978, *M. salasi* López, 1984, *M. sasseri* Handoo, Huettel & Golden, 1995 e *M. triticoryzae* Gaur, Saha and Khan, 1993 foram relatadas também parasitando raízes de arroz no mundo (Brigde et al., 2005).

Em levantamento recente realizado por Negretti et al. (2017), foi relatada a presença das espécies *M. graminicola* e *M. javanica*, além de outros nematoides com três fenótipos de esterase atípicos, ou seja, *Meloidogyne* spp., em regiões orizícolas do RS e SC, provocando danos às plantações. Um outro levantamento realizado em outras localidades do RS mostrou a presença de *M. graminicola* (Steffen et al., 2007) e mais recentemente no Paraná um complexo de espécies predominando *Meloidogyne* sp.3, *M. graminicola* e *Meloidogyne* sp.2 e uma população sem perfil de enzima (Soares, 2017). Recentemente, a espécie de perfil atípico *Meloidogyne* sp.1 detectada em Santa Catarina foi caracterizada como *M. oryzae* através de Taxonomia Integrativa (Mattos et al., 2017).

Plantas de arroz infectadas com o nematoide das galhas apresentam engrossamentos (galhas) nas extremidades das raízes, os quais lembram pequenos cabos de guarda-chuva (Figura 1A e B). Em infecções severas, os sintomas já aparecem logo no início, entre a segunda e a terceira semana

após a semeadura do arroz, evidenciando a presença de galhas nas raízes das plantas infectadas, as quais são menores e frequentemente amarelcidas comparativamente às sadias, sendo tais sintomas normalmente visualizados na lavoura em reboleiras (Steffen et al., 2007), que, em determinados casos, podem culminar com a morte das plantas (Figura 1C e D; Foto da Capa). No entanto, esses sintomas parecem ser mais evidentes em lavouras de arroz irrigado provenientes de sistema de plantio pré-germinado do que em sistema convencional (Gomes, C. B. - Comunicação Pessoal).



Fotos: Leandro Py.

Figura 1. A e B: Plantas de arroz apresentando galhas radiculares e engrossamentos terminais provocadas por *Meloidogyne* sp.0, em lavoura na região de Maleiro, no estado de Santa Catarina (SC); **C e D:** Sintomas em lavoura de arroz infestadas com *Meloidogyne* sp.0, presença de reboleiras com plantas apresentando amarelcimento e até morte de plantas, em SC.

A identificação dessas espécies de *Meloidogyne*, por meio de características morfológicas, bioquímicas e moleculares, seria a primeira etapa para a implementação de técnicas de manejo, como o uso de resistência genética e de rotação de culturas, que são imprescindíveis para a manutenção ou aumento da produção orizícola nacional.

A identificação precisa das espécies de *Meloidogyne* é difícil e, às vezes, é baseada em caracteres subjetivos. Além disso, a diagnose é dificultada pelo elevado número de espécies descritas, muitas vezes com diagnoses duvidosas, presença de espécies crípticas e pela existência de variabilidade intraespecífica. Além do mais, existe o problema do conceito de espécie para organismos predominantemente partenogenéticos, que são considerados híbridos entre espécies anfimíticas e partenogenética meióticas (Triantaphyllou, 1985; Trudgill, 1991; Castagnone-Sereno et al., 1993; Roberts, 1995; Hunt & Handoo, 2009).

Os métodos mais utilizados na diagnose de *Meloidogyne* spp. são a configuração da região perineal de fêmeas, a morfologia da região anterior de machos e juvenis e do estilete de machos, fêmeas e juvenis de segundo estágio (J2), características citogenéticas e sobretudo identificação bioquímica e molecular (Eisenback & Hunt, 2009). Embora a caracterização por meio do polimorfismo das esterases seja uma técnica prática para a identificação de algumas espécies do gênero, não existem padrões para todas elas (Carneiro & Cofcewicz, 2008). No caso das espécies do arroz, só existem perfis de esterase nítidos para *M. graminicola* (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985; Carneiro et al., 2000) e *M. oryzae* (Mattos et al., 2017).

O desenvolvimento de técnicas moleculares, então, abriu novas perspectivas quanto à identificação de espécies e estudos da variabilidade intraespecífica dos nematoides de galhas (NG). A técnica RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), baseada em PCR, é utilizada atualmente para os estudos genéticos e para a diferenciação de várias espécies de *Meloidogyne*, a partir de perfis gerados com o auxílio de *primers* aleatórios (Castagnone-Sereno et al., 1994; Blok et al., 1997; Semblat et al., 1998; Randig et al., 2002; Carneiro et al., 2004, 2008; Fargette et al., 2005; Muniz et al., 2008; Santos et al., 2012). A conversão de marcadores RAPD em marcadores espécie-específicos (SCAR) tem sido realizada para espécies de *Meloidogyne*, e cerca de nove das 20 espécies detectadas no Brasil já podem ser identificadas através dessa ferramenta (Carneiro et al., 2016). Para as espécies do NG do arroz, dois marcadores espécie-específicos foram desenvolvidos para a identificação de *M. graminicola* (Bellafiore et al., 2015; Htay et al., 2016), porém a especificidade desses marcadores não foi confirmada (Negretti et al., 2017).

Atualmente, as medidas de controle ecologicamente corretas e mais eficientes para *Meloidogyne* spp. são a resistência genética e a rotação/sucessão com culturas não hospedeiras ou más hospedeiras. No caso do arroz, as opções para o controle de *M. graminicola* são limitadas e alguns nematocidas sistêmicos amplamente utilizados têm sido cancelados e suspensos do mercado. Embora tenha sido encontrada variabilidade na suscetibilidade de variedades de *O. sativa*, apenas uma resistência parcial foi relatada nessa espécie (Jena; Rao, 1976; Bridge et al., 2005; Prasad et al., 2006; Cabasan et al., 2012; Dimkpa et al., 2015).

Genótipos de arroz resistentes a *M. graminicola* têm sido encontrados em *Orizae longistaminata* L. e *O. glaberrima* Steud, duas espécies selvagens de arroz originárias da África (Plowright et al., 1999; Soriano et al., 1999). *Oryza glaberrima* tem grande importância econômica no continente africano (Second, 1984). Algumas progênies interespecíficas provindas do cruzamento de *O. glaberrima* e *O. sativa* foram menos suscetíveis a *M. graminicola* que o progenitor *O. sativa* (Plowright et al., 1999). A presença de genes de resistência a nematoides do gênero *Meloidogyne* em genótipos selvagens do gênero *Oryza*, especialmente do grupo de genoma AA, pode ser de grande interesse para estudos de melhoramento genético.

Considerando-se os levantamentos realizados até o momento nos estados do RS, PR e SC, foi objetivo do presente boletim relatar os diferentes fenótipos da enzima esterase relacionados às diferentes espécies do nematóide das galhas presentes nesses três estados e destacar a presença de espécies crípticas através dos fenótipos atípicos e clusters intraespecíficos gerados pelos marcadores AFLP e RAPD.

Material e Métodos

Cento e cinco lavouras de arroz irrigado localizadas em vários municípios dos estados do Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC) e Paraná (PR) foram selecionadas para levantamento da ocorrência do nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.). Foram estudadas 51 populações do RS, 31 de SC e 23 do PR. Os locais de origem do material e informações complementares são apresentadas nas Tabelas 1, 2 e 3. Em cada local amostrado, plantas de arroz irrigado (em fase de enchimento de grãos, ou mais novas) com sintomas

de amarelecimento, porte reduzido e apresentando galhas nas raízes (Figura 1 A--D) foram coletadas para identificação das espécies de *Meloidogyne*, utilizando-se metodologia descrita por Carneiro e Almeida (2001). A identificação dos fenótipos esterásticos de *Meloidogyne* spp. foi realizada pelo cálculo da mobilidade relativa (R_m), em relação à primeira banda de *M. javanica* (Esbenshade & Triantaphyllou, 1990; Carneiro et al., 2000). Os fenótipos foram identificados por uma letra e um número que correspondem, respectivamente, a inicial do nome da cultura em inglês, juntamente com o número de bandas (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985, 1990).

Para os estudos moleculares, o DNA genômico de várias populações de *Meloidogyne* spp. foi extraído a partir de 200 a 300 μ l de ovos extraídos de raízes infectadas pelo método de Carneiro et al. (2004). A técnica de PCR-RAPD foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Randig et al. (2002) e a técnica PCR-AFLP seguiu o protocolo desse marcador descrito por Suazo e Hall (1999). Os fragmentos revelados nos géis dos dois marcadores moleculares RAPD e AFLP foram registrados como presentes ou ausentes. Para cada isolado, duas reações de PCR independentes foram corridas no mesmo gel, sendo considerados apenas os fragmentos presentes em ambas reações. Os fragmentos de DNA foram então considerados presentes (1) ou ausentes (0) e convertidos em uma matriz binária.

A reconstrução filogenética foi realizada através do método de agrupamento pelas médias aritméticas não ponderadas (UPGMA, Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean), implementado no programa PAUP * versão 4b10 (Swofford, 2002). Os dados foram considerados como não ordenados e sem ponderação. A análise dos dados dos dois marcadores (AFLP e RAPD) foi realizada de forma conjunta e com 1.000 repetições de *bootstrap* para testar a significância do dendrograma obtido (Felsenstein, 1985). Para o cálculo do polimorfismo intraespecífico, foi considerada a razão número de bandas polimórficas/número de bandas totais.

Resultados e Discussão

Os levantamentos evidenciaram a ocorrência de seis fenótipos de esterase (Est) (Figuras 2 e 3) e apenas um de malato desidrogenase (Mdh) em 105 populações de *Meloidogyne* spp. estudadas, sendo 51 populações do Rio Grande do Sul (RS), 31 de Santa Catarina (SC) e 23 do Paraná (PR). Foram

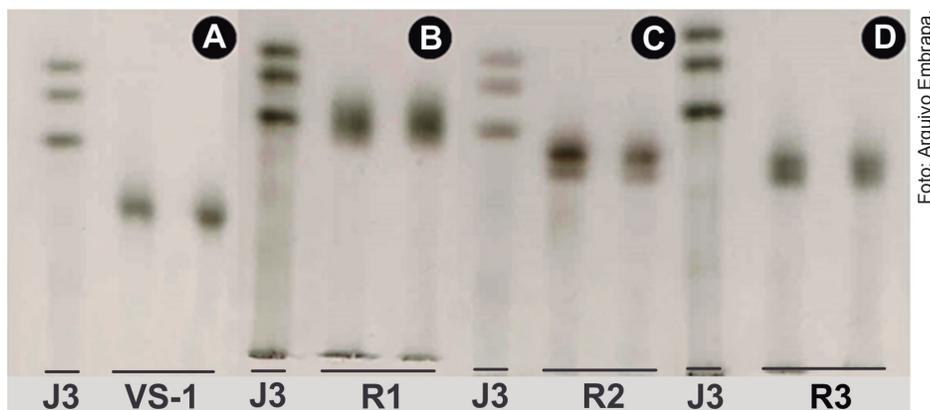


Foto: Arquivo Embrapa.

Figura 2. Fenótipos de esterase (Est) e de malato desidrogenase (Mdh) observados em populações de *Meloidogyne* spp. coletadas em plantas de arroz irrigado no sul do Brasil. **A:** *Meloidogyne graminicola* (EstVS1); **B:** *Meloidogyne oryzae* (Est R1); **C:** *Meloidogyne* sp. 2 (Est R2); **D:** *Meloidogyne* sp. 3 (Est R3). *Meloidogyne javanica* (Est J3) foi utilizado como referência em cada gel (abaixo).

detectadas as espécies *M. graminicola* com o fenótipo Est VS1 (Rm: 0,70), *M. javanica*, Est J3 (Rm: 1,0, 1,20, 1,35), *M. oryzae* com fenótipo Est R1 (Rm:1,02), além de *Meloidogyne* sp.2, Est R2 (Rm: 0,85, 0,91), *Meloidogyne* sp.3, Est R3 (Rm: 0,74, 0,80, 0,82) e um último fenótipo *Meloidogyne* sp.0 (Est R0, sem banda de esterase, Figura 3). Os fenótipos das populações do arroz irrigado, de maneira geral, não apresentaram bandas típicas como é o caso de *M. javanica* e outras espécies, mas sim arrastes em diferentes posições, e isso se deve à grande concentração da enzima esterase (Esbeshade & Triantaphyllou, 1985).

No Rio Grande do Sul (Tabela 1), a ocorrência foi cerca de 80% para *M. graminicola*, 15% para *Meloidogyne* sp. 2 e 5% para *Meloidogyne* sp. 3 considerando os dois trabalhos de levantamento realizados (Steffen et al., 2007; Negretti et al., 2017). Ocorreram misturas de espécies em cerca de 12% das amostras provenientes desse estado.

Em Santa Catarina (Tabela 2), foram estudadas 21 populações sendo que as ocorrências foram de cerca de 60% para *M. graminicola*, 19% para *Meloidogyne* sp.0, 10% para *M. oryzae*, 5,5% para *Meloidogyne* sp. 3, 5,0% para *M. javanica* e 0.5% para *Meloidogyne* sp. 2. Ocorreram misturas de espécies em cerca de 48% das amostras provenientes de Santa Catarina.

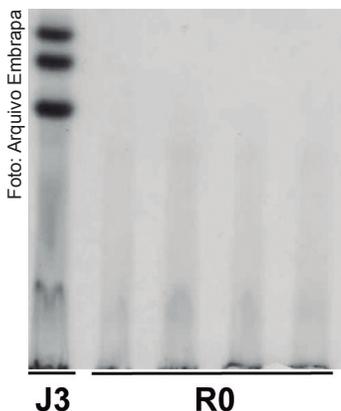


Figura 3. Fenótipos de esterase (Est) de populações sem bandas (Est R0) provenientes do estado de Santa Catarina. *Meloidogyne javanica* (Est J3) foi utilizado como referência no gel.

No estado do Paraná (Tabela 3), predominou *Meloidogyne* sp.3 em cerca de 70% das amostras, seguido por *Meloidogyne* sp.2 em 15,3% das amostras, *M. graminicola* em 10,3% e *Meloidogyne* sp.0 em 4,3% das amostras. Ocorreram misturas em 82,6% das amostras estudadas (Soares, 2017).

Esses trabalhos permitiram ter uma ideia da ocorrência dessas espécies nos três estados, embora resultados recentes têm mostrado maior ocorrência de *Meloidogyne* sp.0 em Santa Catarina em populações puras (Arlei Maceda, informação pessoal).

O primeiro relato da ocorrência de *M. graminicola* na cultura do arroz no sul do Brasil foi feito por Ribeiro et al. (1984), com a confirmação em 1991, identificando-se a espécie como o primeiro relato no estado do Rio Grande do Sul, no município de Palmares do Sul (Sperandio & Monteiro, 1991). Posteriormente, novos relatos foram realizados, abordando a ocorrência em alguns municípios da região sul do Rio Grande do Sul, com ampla distribuição (Sperandio & Amaral, 1994). Atualmente, a ocorrência mais frequente de *M. graminicola* e de outras espécies de nematoide das galhas, em áreas de arroz do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná vêm sendo registradas, usando a enzima esterase como método de identificação (Steffen et al., 2007; Gomes et al., 2009; Negretti et al., 2017, Soares, 2017).

A caracterização de fêmeas por meio do fenótipo esterase tem se mostrado uma técnica adequada para identificar espécies de *Meloidogyne*, sendo uma ótima ferramenta quando comparada a identificações através de caracteres morfológicos, sobretudo o padrão perineal (Carneiro et al., 2016). A técnica permite identificar todas as espécies cujos fenótipos foram bioquimicamente descritos, como também fenótipos atípicos, e detecta populações com mistura de espécies (Carneiro et al., 2016). Seu emprego tem confirmado a ocorrência de espécies de *Meloidogyne* em importantes culturas no Brasil (Carneiro et al., 2016) e viabilizou o levantamento de espécies de *Meloidogyne* e sua distribuição nos campos de arroz irrigado no Sul do Brasil (Steffen et

al., 2007; Negretti et al., 2017; Soares, 2017). Entretanto, dos seis fenótipos de esterase caracterizados nesses trabalhos, em apenas três foi possível a identificação da espécie, tratam-se de *M. graminicola* (Est VS1), *M. javanica* (Est J3) e *M. oryzae* (Est R1), recentemente identificada por Mattos et al. (2017). Dessa maneira, três fenótipos devem ser ainda identificados através de estudos de Taxonomia Integrativa, como foi realizado para *M. oryzae*.

Quanto aos estudos moleculares (AFLP, RAPD), todos os fenótipos atípicos se agruparam separadamente de *M. graminicola*, caracterizando espécies diferentes, como foi demonstrado anteriormente por Carneiro et al. (2004) para *Meloidogyne* spp. do cafeeiro (Figura 4). Dessa maneira, fica registrado um complexo de espécies de *Meloidogyne* ocorrendo na cultura do arroz na região sul do Brasil, havendo necessidade de pesquisas avançadas em taxonomia clássica e molecular para determinação das espécies ainda não identificadas.

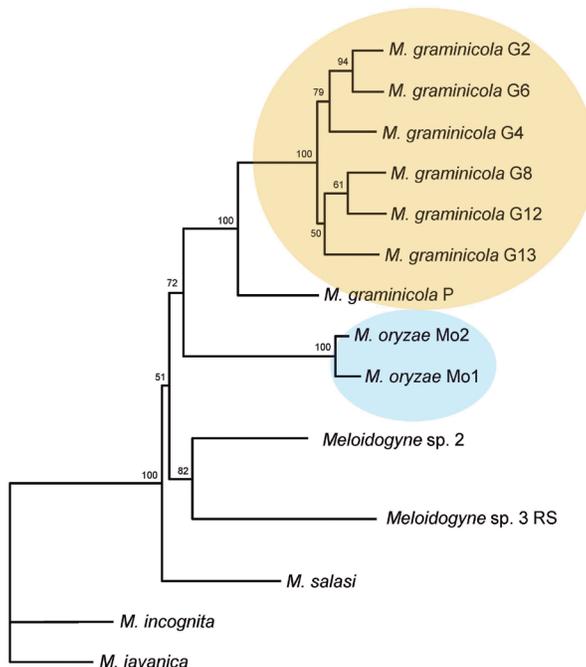


Figura 4. Árvore 'Neighbour-joining' mostrando as relações filogenéticas entre espécies de *Meloidogyne* originárias do arroz (árvore baseada na combinação dos dados AFLP e RAPD).

Tabela 1. Distribuição e caracterização enzimática quanto ao fenótipo de esterases (Est) e malato desidrogenase (Mdh) de populações de *Meloidogyne* spp., em lavouras de arroz irrigado (sistema convencional) no Rio Grande do Sul, Brasil.

Amostras	Origem	Cultivares	Espécies	Fenótipo	
				Est	Mdh
1-8	Santa Maria	IRGA417	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
9-12	São Vicente do Sul	TUNO CL, IRGA420, IRGA 419	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
13	Mata	IRGA 417	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
14	Formigueiro	TUNO CL	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
15-17	São Pedro do Sul	IRGA 410	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
18	Silveira Martins	IRGA 420	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
19-20	Restinga Seca	TUNO CL	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
21	São Sepé	Mistura de cultivares	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
22	Uruguiana	IRGA 424	<i>M. graminicola</i> , <i>Meloidogyne</i> sp.2	VS1 R2	N1a N1a

Amostras	Origem	Cultivares	Espécies	Fenótipo	
				Est	Mdh
23	Uruguaiiana	IRGA 424	<i>Meloidogyne</i> sp.3	R3	N1a
24	Uruguaiiana	BRS Taim	<i>Meloidogyne</i> sp.2	R2	N1a
25	Uruguaiiana	Puitá INTA CL	<i>Meloidogyne</i> sp.3	R3	N1a
26	Uruguaiiana	IRGA 409	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
27	Uruguaiiana	IRGA 409	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
32	Dom Pedrito	IRGA 424	<i>Meloidogyne</i> sp.2	R2	N1a
35	Bagé	INIA Olimar	<i>M. graminicola</i> , <i>Meloidogyne</i> sp.2	VS1 R2	N1a N1a
36	Bagé	INIA Olimar	<i>M. graminicola</i> , <i>Meloidogyne</i> sp.2	VS1 R2	N1a N1a
39	Capão Leão	Puitá INTA CL	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
40	Capão Leão	Puitá INTA CL	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a

Amostras	Origem	Cultivares	Espécies	Fenótipo	
				Est	Mdh
50	Santa Vitória do Palmar	Avaxi CL	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
60	Camaquã	Puitá INTA CL	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
62	Guaíba	IRGA 417	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
64	Guaíba	Epagri 108	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
67	Viamão	Epagri 114	<i>M. graminicola</i> , <i>Meloidogyne sp.2</i>	VS1 R2	N1a N1a
68	Viamão	Puitá INTA CL	<i>M. graminicola</i> , <i>Meloidogyne sp.2</i>	VS1 R2	N1a N1a
69	Mostardas	Puitá INTA CL	<i>M. graminicola</i> , <i>Meloidogyne sp.2</i>	VS1 R2	N1a N1a
73	Cachoeira do Sul	-	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
75	Cachoeira do Sul	-	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a

Fontes: Steffen et al. (2007) e Negretti et al. (2017).

Tabela 2. Distribuição e caracterização enzimática quanto ao fenótipo de esterases (Est) e malato desidrogenase (Mdh) de populações de *Meloidogyne* spp., em lavouras de arroz irrigado (sistema pré-germinado) em Santa Catarina, Brasil.

Amostras	Origem	Cultivares	Espécies	Fenótipo	
				Est	Mdh
1	Guaramirim	Epagri 109	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
2	Guaramirim	Epagri 109	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
3	Guaramirim	Epagri 109	<i>M. graminicola</i> , <i>M. oryzae</i>	VS1, R1	N1a
4	Camboriú	SCS 112	<i>M. graminicola</i> , <i>M. javanica</i> , <i>M. oryzae</i>	VS1, J3, R1	N1a
5	Camboriú	SCS 112	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
6	Camboriú	SCS 112	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
7	Camboriú	SCS 112	<i>M. graminicola</i> , <i>Meloidogyne</i> sp.3, <i>M. oryzae</i> , <i>Meloidogyne</i> sp.2	VS1	N1a
8	Camboriú	SCS 112	<i>M. graminicola</i> , <i>M. oryzae</i>	VS1, R2	N1a N1a
9	Camboriú	SCS 112	<i>M. graminicola</i> , <i>M. oryzae</i>	VS1 R1	N1a
10	Camboriú	SCS 114	<i>M. javanica</i>	J3	N1a

Amostras	Origem	Cultivares	Espécies	Fenótipo	
				Est	Mdh
11	Camboriú	SCS 114	<i>M. graminicola</i> , <i>M. oryzae</i>	VS1, R1	N1a
12	Ilhota	Epagri 109	<i>M. graminicola</i>	VS1	N1a
13	Ilhota	Epagri 109	<i>M. graminicola</i> , <i>M. oryzae</i>	VS1, R1	N1a
14	Ilhota	Epagri 109	<i>M. graminicola</i> , <i>M. oryzae</i>	VS1, R1	N1a
15	Ilhota	Epagri 109	<i>M. graminicola</i> , <i>M. oryzae</i> , <i>Meloidogyne</i> sp.2	VS1, R1, R2	N1a, N1a
16	Ilhota	Epagri 109	<i>M. graminicola</i> , <i>M. oryzae</i>	VS1, R1	N1a
17 (2)*	Rio do Oeste	Epagri 12 CL	<i>Meloidogyne</i> sp.3	R3	N1a
18 (7)*	Nova Veneza	SCS 122	<i>Meloidogyne</i> sp.0	R0	N1a
19 (9)*	Nova Veneza	SCS 121CL	<i>Meloidogyne</i> sp.0	R0	N1a
20 (10)*	Maleiro	SCS 121CL	<i>Meloidogyne</i> sp.0	R0	N1a
21	Maleiro	SCS 121CL	<i>Meloidogyne</i> sp.0	R0	N1a

Fontes: Negretti et al. (2017).

*Código das populações relativo ao levantamento realizado pelo Ministério da Agricultura e Agropecuária (MAPA).

Tabela 3. Distribuição e caracterização enzimática quanto ao fenótipo de esterases (Est) e malato desidrogenase (Mdh) de populações de *Meloidogyne* spp., em lavouras de arroz irrigado (sistema pré-germinado) no noroeste do Paraná, Brasil.

Amostras	Origem	Cultivares	Espécies	Fenótipo	
				Est	Mdh
1	Querência do Norte Est. Porto Natal	SCS117CL	<i>Meloidogyne</i> sp.3, <i>M. graminicola</i>	R3 VS1	N1a
2	Querência do Norte Est. Porto Natal	IRGA428	<i>Meloidogyne</i> sp.3 <i>M. graminicola</i> <i>Meloidogyne</i> sp.2	R3 VS1 R2	N1a
3	Querência do Norte Est. Porto Natal	SCS117CL	<i>Meloidogyne</i> sp.3, <i>M. graminicola</i> , <i>Meloidogyne</i> sp.2	R3, VS1, R2	N1a
4	Querência do Norte Assentamento 23	SCS117CL	<i>Meloidogyne</i> sp.3, <i>M. graminicola</i> , <i>Meloidogyne</i> sp.2	R3, VS1, R2	N1a
5	Querência do Norte Est. Porto Felício	IRGA428	<i>Meloidogyne</i> sp.3, <i>M. graminicola</i> , <i>Meloidogyne</i> sp.2	R3, VS1, R2	N1a
6	Querência do Norte Est. Porto Felício 8	SCS117CL	<i>Meloidogyne</i> sp.3	R3	N1a
7	Querência do Norte Est. Porto Felício 19	SCS121CL	<i>Meloidogyne</i> sp.3, <i>M. graminicola</i> , <i>Meloidogyne</i> sp.2	R3, VS1, R2	N1a

Amostras	Origem	Cultivares	Espécies	Fenótipo	
				Est	Mdh
8	Querência do Norte Est. Porto Felício Florão	SCS121CL	<i>Meloidogyne</i> sp.3, <i>M. graminicola</i>	R3, VS1	N1a
9	Querência do Norte Est. Porto Felício-Arco ires	SCS121CL	<i>Meloidogyne</i> sp.3, <i>M. graminicola</i>	R3, VS1	N1a
10	Querência do Norte Est. Porto Felício-Caiuá	IRGA428	<i>Meloidogyne</i> sp.3, <i>Meloidogyne</i> sp.2	R3, R2	N1a
11	Santa Cruz de Monte Castelo Est. Santa Esmeralda	PUITÁ CL	<i>Meloidogyne</i> sp.3, <i>Meloidogyne</i> sp.2	R3, R2	N1a
12	Santa Isabel do Ivaí Est Mato Grosso	SCS121CL	-	-	-
13	Santa Cruz de Monte Castelo Est. Santo Antônio	SCS117CL	<i>Meloidogyne</i> sp.0	R0	N1a
14	Santa Cruz de Monte Castelo Est. Boa Esperança	PUITÁ CL	<i>Meloidogyne</i> sp.3	R3	N1a
15	Santa Cruz de Monte Castelo Est. Alagoas- -Nutripar	IRGA428	<i>Meloidogyne</i> sp.3	R3	N1a

Amostras	Origem	Cultivares	Espécies	Fenótipo	
				Est	Mdh
16	Querência do Norte Est. Porto 18-Sebastião	IRGA428	<i>Meloidogyne</i> sp.3 <i>Meloidogyne</i> sp.2	R3, R2	N1a
17	Querência do Norte Est. Porto 18-Silva	EPAGRI 109	<i>Meloidogyne</i> sp.3 <i>M. graminicola</i> <i>Meloidogyne</i> sp.2	R3, VS1, R2	N1a
18	Querência do Norte Est. Porto 18-Davias	SCS117CL	<i>Meloidogyne</i> sp.3 <i>M. graminicola</i>	R3, VS1	N1a
19	Querência do Norte Est. Porto 18- Arrendamento	EPAGRI 109	<i>Meloidogyne</i> sp.3 <i>Meloidogyne</i> sp.2	R3, R2	N1a
20	Querência do Norte Assentamento 40	IRGA428	<i>Meloidogyne</i> sp.3 <i>M. graminicola</i> <i>Meloidogyne</i> sp.2	R3, VS1, R2	N1a
21	Querência do Norte Est. Porto Natal-Estopão	SCS117CL	<i>Meloidogyne</i> sp.3 <i>M. graminicola</i> <i>Meloidogyne</i> sp.2	R3, VS1, R2	N1a
22	Querência do Norte Est. Porto Natal-Erivaldo	SCS117CL	<i>Meloidogyne</i> sp.3 <i>M. graminicola</i>	R3, VS1, R2	N1a
23	Querência do Norte Est. Porto Natal-Sonho Real	IRGA428	<i>Meloidogyne</i> sp.3 <i>M. graminicola</i>	R3, VS1	N1a

Fonte: SOARES et al. (2017).

Conclusões

Utilizando-se a caracterização isoenzimática, foi possível observar a ocorrência de três fenótipos atípicos (R0, R2 e R3) e três típicos (VS1, R1 e J3) relativos a *M. graminicola*, *M. oryzae* e *M. javanica*, respectivamente. Em grande parte das amostras foi detectada uma mistura entre os fenótipos encontrados nos três estados, sendo *M. graminicola* a espécie predominante no RS e em SC e *Meloidogyne* sp.3 a de maior ocorrência no PR. Foram detectadas também *Meloidogyne* sp.0, *M. oryzae* e *M. javanica* em SC. Mais estudos são necessários para esclarecer a identidade taxonômica dos nematoides com os três perfis de enzima atípicos através de Taxonomia Integrativa.

Agradecimentos

À FAP-DF pelo apoio financeiro e ao CNPq pelas bolsas Post-Doc e Mestrado. Agradecemos também a Leandro Py e Arlei Maceda pelo envio das populações de *Meloidogyne* sp.0 de Santa Catarina, e que muito contribuíram para o aprimoramento deste boletim.

Referências

- BELLAFFIORE, S.; JOUGLA, C.; CHAPUIS, E.; BESNARD, G.; SUONG, M.; VU, P. N.; DE WHALE, D.; GANTET, P. e THI, X. N. Intraspecific variability of the facultative meiotic parthenogenetic root-knot nematode (*Meloidogyne graminicola*) from rice fields in Vietnam. **Comptes Rendus Biologies**, v. 338, p. 471-483, 2015.
- BLOK, V. C.; PHILLIPS, M. S.; MCNICOL, J. W. e FARGETTE, M. Genetic variation in tropical *Meloidogyne* spp. as shown by RAPDs. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 20, p. 127-133, 1997.
- BRIDGE, J.; PLOWRIGHT, R. A. e PENG, D. Nematode parasites of rice. In: LUC, M., SIKORA, R.A., & BRIDGE, J. (Eds). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. CAB International, Wallingford, UK. 2005. p. 87-128.
- CABASAN, M. T. N.; DE WAELE, D.; KUMAR, A. Comparison of migration, penetration, development and reproduction of *Meloidogyne graminicola* on susceptible and resistant rice genotypes. **Nematology**, v. 14, p. 405-415, 2012.
- CARNEIRO, R. M.; DOS SANTOS, M. F.; ALMEIDA, M. R. A.; MOTA, F. C., GOMES, A. C. M.; TIGANO, M. S. 2008. Diversity of *Meloidogyne arenaria* using morphological, cytological and molecular approaches. **Nematology**, v.10, n. 6, p. 819-834, 2008.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; COFCEWICZ, E. T. Taxonomy of coffee-parasitic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. In: Souza, R. M. (ed). **Plant parasitic nematodes of coffee**. Springer, Holland. 2008. p. 87-122.

- CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* spp. populations. **Nematology**, v. 2, p. 645-654, 2000.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; MONTEIRO, J. M. S.; SILVA, U. C.; GOMES, G. 2016. Gênero *Meloidogyne*: diagnose através de eletroforese de isoenzimas e marcadores SCAR. In: OLIVEIRA, C. M.; DOS SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S. **Diagnose de fitonematóides**. Millennium, Campinas, Brasil. p.71-93.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; TIGANO, M. S.; RANDIG, O.; ALMEIDA, M. R. A.; SARAH, J. L. Identification and genetic diversity of *Meloidogyne* spp. (Tylenchida: Meloidogynidae) on coffee from Brazil, Central America and Hawaii. **Nematology**, v. 6, p. 287-298, 2004.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides das galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**, v. 25, p. 35-44, 2001.
- CASTAGNONE-SERENO, P.; BONGIOVANNI, M.; DALMASSO, A. Stable virulence against the tomato resistance Mi gene in the parthenogenetic root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Phytopathology**, v. 83, n. 8, p. 803-812, 1993.
- CASTAGNONE-SERENO, P.; VANLERBERGHE-MASUTTI, F.; LEROY, F. Genetic polymorphism between and within *Meloidogyne* species detected with RAPD markers. **Genome**, v. 37, p. 904-909, 1994.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. 2017. Disponível em: < www.conab.gov.br/OlalaCMS/.../17_06_08_09_02_48_boletim_graos_junho_2017.pdf. Consultado em 28/08/2017.>. Acesso: em: nov. 2017.
- DIMKPA, S. O. N.; LAHARI, Z.; SHRESTHA, R.; DOUGLAS, A.; GHEYSEN, G. PRICE, A. H. A genome-wide association study of a global rice panel reveals resistance in *Oryza sativa* to root-knot nematodes. **Journal of Experimental Botany**, v. 37, p.1191-1200, 2015.
- EISENBACK, J. D.; Hunt, D. J. General morphology. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds.), **Root-knot nematodes**. Wallingford, UK: CABI Publishing. 2009. p. 18-54.
- ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species (Nematoda: Tylenchida). **Journal of Nematology**, v. 17, p. 6-20, 1985.
- ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, v. 22, p.10-15, 1990.
- FARGETTE, M.; LOLLIER, V.; PHILLIPS, M.; BLOK, V.; FRUTOS, R. AFLP analysis of the genetic diversity of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*, major agricultural pests. **Comptes Rendus Biologies**, v. 328, n. 5, p.: 455-462, 2005.
- FELSENSTEIN, J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution**, v. 39, n. 4, p.783-791, 1985.
- GOMES, C. B.; STEFFEN, R. B.; ANTONIOLLI, Z. I. **Levantamento do nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.) em arroz irrigado na região Sul do Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. p. 14 (Embrapa Clima Temperado. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 87).
- HTAY, C.; PENG, H.; HUANG, W.; KONG, L.; HE, W.; HOLGADO, R.; PENG, D. The development and molecular characterization of a rapid detection method for rice root-knot nematode (*Meloidogyne graminicola*). **European Journal of Plant Pathology**, v. 146, n. 2, p.281-291, 2016.

- HUNT, D. J.; HANDOO, Z. A. Taxonomy, identification and principal species. In: PERRY, R. N., MOENS, N.; STARR, J. L. (Eds). **Root-knot nematodes**. CABI, Cambridge, USA, 2009. p.55-97.
- JENA, R. N.; RAO, Y. S. Nature of root-knot (*Meloidogyne graminicola*) resistance in rice (*Oryza sativa*). Isolation of resistant varieties. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences**, v. 83, p. 177–184, 1976.
- MATTOS, V. S., CARES, J. E.; GOMES, C. B.; GOMES, A. C. M. M.; MONTEIRO, J. M. S.; GOMEZ, G. M., CASTAGNONE-SERENO, P.; CARNEIRO, R. M. D. G. Integrative Taxonomy of *Meloidogyne oryzae* (Nematoda: Meloidogyninae) parasitizing rice crop in Southern Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, 2017. Disponível em: <doi.org/10.1007/s10658-017-1400-9>. Acesso: em: dez. 2017
- MUNIZ, M. F. S.; CAMPOS, V. P.; CASTAGNONE-SERENO, P.; CASTRO, J. M. C.; ALMEIDA, M. R. A.; CARNEIRO, R. M. D. G. Diversity of *Meloidogyne exigua* (Tylenchida: Meloidogynidae) populations from coffee and rubber tree. **Nematology**, v. 10, n. 6, p. 897-910, 2008.
- NEGRETTI, R. R.; GOMES, C. B.; MATTOS, V. S.; SOMAVILLA, L.; MANICA-BERTO, R.; AGOSTINETTO, D.; CASTAGNONE-SERENO, P.; CARNEIRO, R. M. D. G. Characterization of a *Meloidogyne* species complex parasitizing rice in southern Brazil. **Nematology**, v. 19, n. 4, p. 403-412, 2017.
- PLOWRIGHT, R. A.; COYNE, D. L.; NASH, P. JONES, M. P. Resistance to the rice nematodes *Heterodera sacchari*, *Meloidogyne graminicola* and *M. incognita* in *Oryza glaberrima* and *O. glaberrima* × *O. sativa* interspecific hybrids. **Nematology**, v. 1, p. 745-751, 1999.
- PRASAD, J. S., VIJAYAKUMAR, C. H. M.; SANKAR, M.; VARAPRASAD, K. S.; PRASAD, M. S.; RAO, Y. K. Root-knot nematode resistance in advanced back cross populations of rice developed for water stress conditions. **Nematologia Mediterranea**, v. 34, p. 3-8, 2006.
- RANDIG, O.; BONGIOVANNI, M.; CARNEIRO, R. M. D. G.; CASTAGNONE-SERENO, P. Genetic diversity of root-knot nematodes from Brazil and development of SCAR markers specific for the coffee-damaging species. **Genome**, v, 45, p. 862-870, 2002.
- RIBEIRO, A. S. **Doenças do arroz irrigado**. 2. ed. rev. ampl. Pelotas: EMBRAPA-UEPAE de Pelotas, 1984. 56 p. (EMBRAPA-UEPAE de Pelotas. Circular técnica, 19).
- ROBERTS, P. A. Conceptual and practical aspects of variability in root-knot nematodes related to host plant resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 33, p. 199-221, 1995.
- SANTOS, M. F. A.; FURLANETTO, C.; CARNEIRO, M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; MOTA, F. C.; GOMES, A. C. M. M.; SILVEIRA, N. O. R.; SILVA, J. G. P., CASTAGNONE-SERENO, P., TIGANO, M. S.; CARNEIRO, R. M. D. G. Biometrical, biological, biochemical and molecular characteristics of *Meloidogyne incognita* isolates and related species. **European Journal of Plant Pathology**, v. 134, p. 671-684, 2012.
- SECOND, G. **Relations, evolutives chez le genre *Oryza* et procesus de domestication des riz**. Etude Set Theses, ORSTOM, Paris, France, 1984.
- SEMBLAT, J. P.; WAJNBERG, E.; DALMASSO, A.; ABAD, P.; CASTAGNONE-SERENO, P. High-resolution DNA fingerprinting of parthenogenetic root-knot nematodes using AFLP analysis. **Molecular Ecology**, v. 7, p. 119-125, 1998.
- SOARES, M. R. C. **Caracterização isoenzimática de *Meloidogyne* spp. em arroz irrigado no noroeste do Paraná e tratamento de semente no controle do nematoide**. 2017. 64 p. Dissertação de Mestrado, Curso de Agronomia. Universidade Estadual de Maringá.

SORIANO, I. R.; SCHMIT, V.; BRAR, D. S.; PROT, J. C.; REVERSAT, G. Resistance to rice root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* identified in *Oryza longistaminata* and *O. glaberrima*. **Nematology**, v. 1, p. 395–398., 1999.

SPERANDIO, C. A.; MONTEIRO, A. R. Ocorrência de *Meloidogyne graminicola* em arroz irrigado no Rio Grande do Sul. **Nematologia Brasileira**, v. 15, p. 24, 1991.

SPERANDIO, C. A.; AMARAL, A. S. Ocorrência de *Meloidogyne graminicola* causador da falsa bicheira do arroz irrigado no Rio Grande do Sul. **Revista Lavoura Arrozeira**, v. 47, n. 413, p.18-21, 1994.

STEFFEN, R. B., ANTONIOLLI, Z. I., KIST, G. P., LUPATINI, M.; GOMES, C.B. Caracterização bioquímica do nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.) em lavouras de arroz irrigado na região central do Rio Grande do Sul. **Ciência e Natura**, v. 29, p. 37-46, 2007.

SUAZO, A.; HALL, H. G. Modification of the AFLP protocol applied to honey bee (*Apis mellifera* L.) DNA. **Biotechniques**, v. 26, n. 4, p. 704-705, 1999.

SWOFFORD, D. L. **PAUP***: phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4b10. Massachusetts: Sinauer Associates, 2002. 144p.

TRIANANTAPHYLLOU, A. C. Cytogenetics, cititaxonomy and phylogeny of root-knot nematodes. In: CARTER, C. C.; SASSER, J. N. (Eds). **An advanced treatise on *Meloidogyne***: biology and control. v. 1. North Carolina State University Graphics, Raleigh, USA. 1985. p.113–126.

TRUDGILL, D. L. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 29p. 167, 1991.



**Recursos Genéticos e
Biotecnologia**

Patrocínio



Apoio



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO

