

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



Tese

Diversidade de populações de *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* spp. de diferentes regiões do sul do Brasil produtoras de batata e estudo da patogenicidade em *Solanum* spp.

Israel Lima Medina

Pelotas, 2013

ISRAEL LIMA MEDINA

Diversidade de populações de *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* spp. de diferentes regiões do sul do Brasil produtoras de batata e estudo da patogenicidade em *Solanum* spp.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Fitossanidade (área do conhecimento: Fitopatologia).

Orientador: Dr. Cesar Bauer Gomes
Coorientadoras: Ph.D. Regina M. D. Gomes Carneiro
Dra. Danielle Ribeiro de Barros

Pelotas, 2013

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

M491d Lima-Medina, Israel

Diversidade de populações de *Meloidogyne* spp. E *Pratylenchus* spp. De diferentes regiões do Sul do Brasil produtoras de batata e estudo da patogenicidade em *Solanum* spp./ Israel Lima Medina ; orientador Cesar Bauer Gomes; co-orientadores Regina M.D. Gomes Carneiro e Danielle Ribeiro de Barros - Pelotas, 2013.-117f. : il.- Tese (Doutorado) –Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2013.

1.*Solanum tuberosum*. 2.*Meloidogyne* spp. 3.*Pratylenchus* spp. 4.Diversidade 5.Variabilidade intraespecífica
6.Agressividade 7.Ciclo de vida 8.Resistência I.Gomes, Cesar Bauer(orientador) II.Título.

CDD 632.651

Banca examinadora:

Prof. Dr. Cesar Bauer Gomes
(Embrapa Clima Temperado)
(Orientador/Presidente da Banca examinadora)

Profa. Danielle Ribeiro de Barros
(Departamento de Fitossanidade / FAEM / UFPEL)

Ph. D. Arione da Silva Pereira
(Fitomelhoramento/Embrapa Clima Temperado)

Dra. Cley Donizeti Martins Nunes
(Fitopatologia/Embrapa Clima Temperado)

Dra. Elis Teresinha Cofcewicz
(Nematologista Consultora)

A Dios sobre todas las cosas

A Isabel Milagros que vino a iluminar mi vida, sin ti no habria este doctorado

A mi familia que a pesar de la distancia siempre creyeron en mi

A Débora por ser mi pilar, que sin ti no cumpliria este sueño

Dedico

Agradecimentos

À Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Departamento de Fitossanidade, pela oportunidade da realização deste curso.

Ao Programa do Estudante Convênio de Pós-Graduação da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (PEC-PG/CAPES), pelo apoio financeiro.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Clima Temperado, pelo fornecimento de infra-estrutura para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao pesquisador Dr. Cesar Bauer Gomes, pela orientação e pelo acompanhamento desta pesquisa durante estes quatro anos, e pela confiança depositada em mim.

À pesquisadora Dra. Regina Gomes Carneiro (CENARGEN) pelo apoio e a orientação desta pesquisa.

À Universidade Nacional de Brasília pelo apoio durante minha estadia no Distrito Federal.

Ao pesquisador Dr. Arione Pereira pelo fornecimento do material para execução do trabalho.

Ao Pesquisador Ph. D. Nilceu Nazareno do IAPAR pela ajuda incondicional nas coletas realizadas nas lavouras de batata.

Ao pesquisador Odoni da Embrapa Canoinhas, pelo apoio e acompanhamento nos produtores de batata de Santa Catarina.

Ao pesquisador Dr. Vilmar Gonzaga pela ajuda na identificação das espécies de *Pratylenchus*.

Aos professores do Departamento de Fitossanidade pelo apoio constante e pela contribuição em minha vida acadêmica, e aos colegas do programa de Pós Graduação em Fitossanidade.

Aos funcionários e estagiários do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Clima Temperado Gelson Krolow, Fernando Tavares, Claudiomar Amaral, Vanessa, Elis, Daniele, Fernanda, Aline que fizeram agradável minha estadia no laboratório e por seu aporte incondicional na execução do trabalho;

Aos colegas do Laboratório de Nematologia da EMBRAPA-CENARGEN Valdir, Vanessa, Edriana, Mariana, Joelma, Vania, Aldomiro, Giulia, Rita, pela amizade, carinho e ajuda durante a realização do trabalho;

Aos colegas do Laboratório da Nematologia da Embrapa de Quarentena Vegetal que colaboraram na execução do trabalho.

Aos amigos e colegas, Lúcia, Victor Hugo, Michele, Dediél, Daniele, Fernanda, Daniel, Rafael, Elen, Fernando, Josiane, Jaqueline, Caroline, Bianca, Monalize, Chaiane e Veridiana, pelo apoio e incentivo constante durante toda esta etapa de estudo.

A todos os amigos que conheci no decorrer do doutorado e fizeram parte do trabalho.

A Débora por ser incentivadora e companheira em diferentes momentos da minha vida acadêmica e por acreditar em mim.

Enfim, a todos que de certa forma fizeram parte durante alguma etapa do doutorado.

Resumo

Lima-Medina, Israel. **Diversidade de populações de *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* spp. de diferentes regiões do Sul do Brasil produtoras de batata e estudo da patogenicidade em *Solanum* spp.** 2013. 117f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

Teve-se por objetivo no presente estudo: *i*) caracterizar as populações do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) e das lesões (*Pratylenchus* spp.) em lavouras de batata do Rio Grando do Sul (RS), Santa Catarina (SC) e Paraná (PR); *ii*) avaliar a agressividade de populações de *M. javanica* em cultivares comerciais de batata selecionadas; *iii*) avaliar a resistência de cultivares comerciais batata e acessos silvestres a *Meloidogyne* spp.; e *iii*) estudar a o ciclo de vida de *M. javanica* em genótipos de batata resistente e suscetível. Foram obtidas 47 populações de *Meloidogyne* spp. e 27 de *Pratylenchus* spp. nos três estados. As populações de *Meloidogyne* spp. foram caracterizadas bioquimicamente através da enzima esterase (Est), sendo 20 dessas populações, caracterizadas molecularmente por marcadores PCR e RAPD. As populações de *Pratylenchus* foram identificadas por meio de caracteres morfológicos e morfométricos. Posteriormente, avaliou-se a agressividade de quatro populações de *M. javanica* provenientes dos três estados nas cultivares de batata Agata e BRS Clara. A seguir, avaliou-se, em casa de vegetação, a reação de nove cultivares comerciais de batata quanto a resistência a *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus brachyurus*, e de 24 acessos de batata silvestre a *M. javanica*. Finalmente, estudou-se o ciclo de vida de *M. javanica* em uma cultivar suscetível (Ana) e em um acesso de batata silvestre resistente (68-16) sob condições controladas ($24^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$; 14h luz). De forma geral, verificou-se a presença de *Meloidogyne* spp. em 42,34% das amostradas coletadas nas lavouras de batata, sendo *M. javanica* com o fenótipo Est J3, a espécie mais frequente. Nas amostras provenientes do RS, foram obtidas 42 populações de *Meloidogyne* com cinco fenótipos esterásticos. Os fenótipos de *M. javanica* Est J3, J2 e J2a foram encontrados em 100, 3,0 e 12,1% das amostras, respectivamente. Além disso, foram detectadas duas populações de *M. incognita* Est I2, e duas populações de *M. arenaria* Est A2, que corresponderam a 13,2% das amostras. Em SC foram identificadas sete populações de *M. javanica* Est J3 em todas as amostras onde foi detectado o nematoide das galhas. No estado do PR, constatou-se a ocorrência de seis populações de *M. javanica* Est J3, uma população de *M. ethiopica* Est E3 e uma população de *M. incognita* Est I2, as quais corresponderam a 85,7, 14,3 e 14,3% das áreas amostradas onde o nematoide das galhas foi detectado, respectivamente. Registrou-se a ocorrência do nematoide das lesões (*Pratylenchus* spp.) em 24,32% das amostras. Entre as amostras coletadas no RS cuja a presença de *Pratylenchus* spp. foi

registrada, identificaram-se 17 populações como *P. brachyurus* e quatro não foram possíveis de serem caracterizadas ao nível de espécie. Nos estados de SC e do PR, verificou-se apenas a ocorrência de *P. brachyurus* em duas e quatro amostras, respectivamente. Pela análise RAPD, 317 e 435 fragmentos reprodutíveis foram amplificados para as espécies/populações de *Meloidogyne* testadas, cuja percentagem de bandas polimórficas amplificadas variou de 13,9 a 27,1% respectivamente. Pela análise filogenética, três grupos se formaram: em um grupo, 15 populações de *M. javanica* Est J3 se agruparam; *M. incognita* Est I2, *M. ethiopica* Est E3 e *M. arenaria* Est A2 formaram um segundo grupo, e um terceiro agrupamento foi formado por duas populações de *M. javanica* Est J2a, observando-se uma baixa variabilidade intraespecífica entre ambas (9,47%). Avaliando-se a agressividade das populações de *M. javanica*, verificou-se interação significativa entre cultivares de batata e populações do nematoide com as variáveis número de galhas, fator de reprodução, número de 'pipocas', altura de planta e massa de tubérculos. Na avaliação da reação das cultivares de batata a *Meloidogyne* spp., a maioria dos materiais testados foi suscetível. Em relação à reação dos acessos de batatas silvestres a *M. javanica*, dois genótipos foram selecionados como resistentes (675 e 68-16) e um, como moderadamente suscetível (51-9). E, pela análise do desenvolvimento e reprodução de *M. javanica* em dois diferentes genótipos de batata, verificou-se prolongamento do ciclo de vida do nematoide no acesso resistente 68-16 comparativamente à cultivar suscetível Ana.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum*, *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., ocorrência, diversidade, variabilidade intraespecífica, agressividade, resistência, ciclo de vida.

Abstract

Lima-Medina, Israel. **Diversity of *Meloidogyne* spp. and *Pratylenchus* spp. populations parasitizing potato in southern Brazil and their pathogenicity on *Solanum* spp.** 2013. 117f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brazil.

The Objectives of this study were *i*) to characterize root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) and root-lesion nematodes (RLN) (*Pratylenchus* spp.) parasitizing potato crops in the states of Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC) and Paraná (PR), southern Brazil; *ii*) to access the aggressiveness of *Meloidogyne javanica* populations on selected potato cultivars; *iii*) to evaluate the resistance of commercial cultivars and wild accessions of potato to *Meloidogyne* spp., and *iv*) to study the life cycle of *M. javanica* on resistant and susceptible potato genotypes. In this study, 47 and 27 populations of *Meloidogyne* spp., and *Pratylenchus* spp. were obtained, respectively. *Meloidogyne* populations were biochemically characterized using esterase isozyme (Est). A subset of twenty populations was further characterized molecularly by SCAR PCR and RAPD markers. Populations of *Pratylenchus* spp. were characterized by morphological and morphometric characters. Subsequently, the aggressiveness of four populations of *M. javanica* from RS, SC and PR were evaluated in the commercial potato cultivars BRS Clara and Agata. Subsequently, the reaction of nine commercial potato cultivars for resistance to *Meloidogyne* spp. and *Pratylenchus brachyurus*, and the resistance of 24 wild potato accessions to *Meloidogyne javanica* was evaluated in greenhouse conditions. Finally, the life cycle of *M. javanica* in a susceptible cultivar (BRS Ana) and other resistant wild potato (68-16) was investigated under controlled conditions (24°C ± 0,5°C; 14h light). Overall, *Meloidogyne* spp. was present at 42.34% of sampled sites, and *M. javanica* (Est J3) was the most frequent species. Forty-two populations of *Meloidogyne* with five different esterase phenotypes were obtained from RS state. *M. javanica* J2, J2a and J3 occurred on 3%, 12.1% and 100% of sampled sites, respectively. Forty-two populations of *Meloidogyne* with five different esterase (Est) phenotypes were obtained in the collected samples from RS. *M. javanica* Est J3, J2 and J2a occurred at 100, 3.0 and 12.1% of the samples, respectively. Moreover, two populations of *M. incognita* I2, and two populations of *M. arenaria* A2 (13.2% in total), were detected. In SC state, *M. javanica* (J3) was observed on 100% of sampled sites. In PR state, six populations of *M. javanica* (J3), one population of *M. ethiopica* (E3) and one population of *M. incognita* (I2) were observed, which corresponds to 85.7%, 14.3% and 14.3% of the total samples, respectively. The occurrence of *Pratylenchus* spp., was observed in 24.32% of the total samples. Among them, samples obtained from RS state, there were 17 populations identified as *P. brachyurus* (81%) and it was not

possible to characterize four populations (19%) by specific level. In SC and PR, *P. brachyurus* occurred in two and four samples, respectively, and was the only species identified. In the RAPD analysis, 317 and 435 reproducible amplified fragments were observed for the isolates whose percentage of polymorphisms varied from 13.9% within *M. javanica* populations and 27.1% between *M. javanica* and other *Meloidogyne* spp. In the phylogenetic analysis, there was three groups, in which 15 populations of *M. javanica* (J3) formed a major group; *M. incognita* (I2), *M. ethiopica* (E3), and *M. arenaria* (A2) formed a second group, and the third group formed by two populations of *M. javanica* (J2a) with a low intraspecific variability between them (9.47%). In the aggressiveness of *M. javanica* populations, there was significant interactions between potato cultivars and nematode populations according to total number of galls (roots and tubers), nematode reproduction factor, plant height and tuber weight. For the genetic screenings, most potato cultivars were susceptible to both *Meloidogyne* spp. and *Pratylenchus brachyurus*. Interesting, two accessions of wild potatoes (675 and 68-16) were resistant and one (51-9) moderately susceptible to *M. javanica*. Finally, we observed an extended life cycle of *M. javanica* in the resistant accession of wild potato compared to the susceptible potato cultivar BRS Ana.

Keywords: *Solanum* spp., *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., occurrence, diversity, intraspecific variability, aggressiveness, resistance, life cycle.

Lista de Figuras

Capítulo I

- Figura 1 Localização e distribuição de espécies de *Meloidogyne* por município em áreas de batata nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Pelotas/RS, 2013..... 37
- Figura 2 Fenótipos de esterase (Est) detectados em 57 populações de *Meloidogyne* spp. coletadas em áreas produtoras de batata dos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná e suas respectivas percentagens de ocorrência. Pelotas/RS, 2013..... 39
- Figura 3 Sintomas causados por *M. ethiopica* em tubérculos de batata. A: empipocamento; B: fêmeas de *M. ethiopica* infectando o tubérculo da cultivar Caesar. Pelotas/RS, 2013..... 42
- Figura 4 Localização e distribuição de espécies de *Pratylenchus* por município em áreas de batata dos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Pelotas/RS, 2013..... 45
- Figura 5 Fotomicrografia de *Pratylenchus brachyurus* em microscópio óptico. A: parte posterior do corpo (100x), B: parte anterior do corpo (100x). Pelotas/RS, 2013..... 46
- Figura 6 Análise RAPD de 20 populações de *Meloidogyne* spp. com o primer C2. As setas indicam os fragmentos monomórficos 630 e 855bp. Pelotas/RS, 2013..... 47
- Figura 7 Árvore filogenética de dados obtidos com marcadores RAPD de *Meloidogyne* spp. Códigos em negrito indicam as espécies e populações discriminadas na Tabela 1. Números próximos aos nós indicam as probabilidades de similaridade. Nós sem valores indicam similaridade abaixo de 50%. Pelotas/RS, 2013..... 49

Capítulo II

- Figura 1 Avaliação do número de pipocas por unidade de área em tubérculo de batata. Pelotas/RS, 2013..... 56
- Figura 2 Sintomas de pipoca em tubérculos de batata nas cvs. BRS Clara e Agata infectados com quatro populações de *M. javanica*. Populações P1, P2 e P3: *M. javanica* Est J3; e P4: *M. javanica* Est J2a. Pelotas/RS, 2013..... 59

Capítulo III

- Figura 1 Tubérculos de diferentes genótipos de batata exibindo pipocas causadas por *M. incognita* (A); e raízes com galhas causadas pelo nematoide (B). Pelotas/RS, 2013 77
- Figura 2 Penetração de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* nos genótipos Ana e 68-16 e evolução dos diferentes estádios de desenvolvimento do ciclo de vida do nematoide por um período de 40 dias a $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Pelotas/RS, 2013..... 90
- Figura 3 A, B, C e D: radículas dos genótipos de batata BRS Ana e 68-16 coradas com fucsina ácida, mostrando J2 aos 5 - 10 DAI (dias após a inoculação); E, F, G e H: J3/J4 - desenvolvimento e estabelecimento de indivíduos na raiz no cilindro central aos 15 – 20 DAI. Pelotas/RS, 2013..... 91
- Figura 4 A e C: desenvolvimento de fêmeas de *Meloidogyne javanica* em raízes aos 30 e 35 DAI no genótipo BRS Ana; B e D: migração de machos das raízes do genótipo 68-16 aos 30 e 35DAI; E: postura de ovos aos 40 DAI no genótipo BRS Ana; F: Desenvolvimento de fêmeas no genótipo 68-16, aos 40 DAI; G e H: formação de massas de ovos nas raízes do genótipo BRS Ana aos 50 DAI, e postura de ovos no genótipo 68-16 aos 65 DAI. Pelotas/RS, 2013..... 92

Lista de Tabelas

Capítulo I

Tabela 1	Código das populações utilizadas nas análises RAPD, origem geográfica, espécie de <i>Meloidogyne</i> e fenótipos de esterase presentes em amostras coletadas em áreas de batata. Pelotas/RS, 2013.....	29
Tabela 2	Primers RAPD e suas respectivas sequências 3'-5' utilizados em reações de PCR para o estudo da variabilidade genética de populações de <i>Meloidogyne</i> spp. provenientes de batata da Região Sul do Brasil. Pelotas/RS, 2013.....	32
Tabela 3	Fenótipos isoenzimáticos de esterase e suas respectivas percentagens de ocorrência e níveis populacionais/amostra, observados em 57 populações de <i>Meloidogyne</i> spp. provenientes de áreas de batata do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e do Paraná. Pelotas/RS, 2013.....	34
Tabela 4	Espécies de <i>Pratylenchus</i> , identificadas em amostras de batata coletadas no Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, e seus respectivos níveis populacionais. Pelotas/RS, 2013.....	44
Tabela 5	Taxa de polimorfismo RAPD observado ao nível de espécie em diferentes espécies e fenótipos de populações de <i>Meloidogyne</i> . Pelotas/RS, 2013.....	48

Capítulo II

Tabela 1	Número de galhas nas raízes, número de pipocas em tubérculos e fator de reprodução (FR) de <i>Meloidogyne javanica</i> em duas cultivares de batata (Agata e BRS Clara) infectadas com quatro populações de <i>M. javanica</i> . Populações P1 (Amostra 6/Mj1), P2 (Amostra 108/Mj15) e P3 (amostra 86/Mj12): <i>M. javanica</i> Est J3; e, P4 (Amostra 47/Mj17): <i>M. javanica</i> Est J2a, 55 dias após a inoculação. Pelotas/RS, 2013.....	57
----------	--	----

Tabela 2	Altura de plantas e Massa de tubérculos em plantas de batata cvs. Agata e BRS Clara, 55 dias após a inoculação com as populações P1, P2 e P3: (<i>M. javanica</i> Est J3); e P4: (Est J2a). Pelotas/RS, 2013.....	60
Tabela 3	Massa fresca da parte aérea e massa fresca da raiz em plantas de batata inoculadas com quatro populações de <i>Meloidogyne javanica</i> em dois genótipos de batata Pelotas/RS, 2013.....	61
Tabela 4	Coefficiente de correlação entre número de galhas/raiz, número de pipocas/tubérculo, e, fator de reprodução de <i>M. javanica</i> com altura de planta, massa de tubérculos e massa fresca da parte aérea e da raiz, em dois genótipos de batata Pelotas/RS, 2013.....	62
Capítulo III		
Tabela 1	Genótipos de batata cultivada e acessos de batata silvestre do banco de germoplasma da Embrapa, com seus respectivos progenitores e origem. Pelotas/RS, 2013.....	72
Tabela 2	Reação de genótipos de batata a <i>Meloidogyne javanica</i> , <i>M. incognita</i> e <i>M. arenaria</i> . Pelotas-RS, 2013.....	78
Tabela 3	Reação de genótipos de batata a <i>Meloidogyne ethiopica</i> , <i>M. graminicola</i> e <i>M. enterolobii</i> . Pelotas-RS, 2013.....	79
Tabela 4	Reação de genótipos de batata a <i>Pratylenchus brachyurus</i> . Pelotas-RS, 2013.....	83
Tabela 5	Reação de genótipos de batata cultivada e acessos de batata silvestre a <i>Meloidogyne javanica</i> . Pelotas-RS, 2013.....	85
Tabela 6	Avaliação da penetração e desenvolvimento de <i>M. javanica</i> em raízes de batata da cultivar BRS Ana e do acesso silvestre 68-16 inoculadas com o nematoide. Pelotas/RS, 2013.....	87

Sumário

Resumo.....	7
Abstract.....	9
Lista de Figuras.....	11
Lista de Tabelas.....	13
Sumário.....	15
1 Introdução geral.....	17
2 Capítulo I - Levantamento e caracterização do nematoide das galhas (<i>Meloidogyne</i> spp.) e das lesões (<i>Pratylenchus</i> spp.) em batata nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná.....	23
2.1 Introdução.....	23
2.2 Material e Métodos.....	26
2.3 Resultados e Discussão.....	33
2.4 Conclusões.....	52
3 Capítulo II - Agressividade de populações de <i>Meloidogyne javanica</i> em cultivares de batata.....	53
3.1 Introdução.....	53
3.2 Material e Métodos.....	55
3.3 Resultados e Discussão.....	57
3.4 Conclusões.....	65
4 Capítulo III - Reação de batata (<i>Solanum tuberosum</i> L.) ao nematoide das galhas (<i>Meloidogyne</i> spp.), nematoide das lesões (<i>Pratylenchus brachyurus</i>), e penetração e desenvolvimento de <i>Meloidogyne javanica</i>	66
4.1 Introdução.....	66
4.2 Material e Métodos.....	70
4.3 Resultados e Discussão.....	75

4.4 Conclusões.....	93
5 Conclusões Gerais.....	94
Referências.....	95
Anexo.....	111

Introdução Geral

A batata, de origem andina, é uma planta dicotiledônea pertencente à família Solanaceae, gênero *Solanum*, a qual contém mais de 2.000 espécies, onde mais de 150, são produtoras de tubérculos (FORTES; PEREIRA, 2003). Dentre essas espécies, *Solanum tuberosum* L. é considerada uma das mais importantes economicamente por ser plantada em quase todas as regiões do mundo (ZAMBOLIM, 2011). As espécies silvestres de batata apresentam grande importância em programas de melhoramento genético em função da sua variabilidade genética para utilização em cruzamentos, com o objetivo de introduzir genes de interesse agrônomo em espécies cultivadas, como por exemplo, resistência a doenças e pragas (TROGNITZ et al., 1997).

A produção anual de batata, mundialmente, é de aproximadamente 300 milhões de toneladas; e, no Brasil, gira em torno de 2,8 milhões de toneladas (ABBA, 2013). A produção nos principais estados brasileiros produtores de batata é da ordem de 1,18 milhão de toneladas no Estado de Minas Gerais, 741,88 mil no Paraná, 674,28 mil em São Paulo, 351,72 mil no Rio Grande do Sul, 334,76 em Goiás, 293,47 na Bahia e 122,26 mil toneladas, em Santa Catarina. No total correspondem a 80% da produção nacional, onde Minas Gerais é o estado com maior produção (IBGE, 2012). Conforme observações feitas por Silva (2009), nos últimos anos foi observado um deslocamento das áreas de plantio do Sul do país para o Centro Oeste e Nordeste, observando-se um aumento de 300 a 350% nas áreas plantadas. No entanto, a região Sul ainda corresponde ao maior volume de tubérculos produzidos.

A cultura da batata é considerada socioeconomicamente importante na alimentação da humanidade e por ser uma fonte de ingresso econômico na renda do

produtor rural, especialmente em países que se encontram em desenvolvimento (PEREIRA; DANIELS, 2003). Porém, problemas de ordem fitossanitária causam prejuízos diretamente na produção ou influenciam na qualidade do produto (ZAMBOLIM, 2011). Dentre esses problemas, os fitonematoides representam sérios problemas à bataticultura em praticamente todas as regiões onde essa tuberosa é cultivada (PINHEIRO; LOPES, 2011). Em torno de 140 espécies, distribuídas em 45 gêneros de fitonematoides já foram constatadas em cultivos de batata no mundo inteiro, porém, são poucas as espécies de importância econômica distribuídas nas diferentes latitudes (JATALA, 1986; PRASAD, 1993). De acordo com Barker (1998), os principais danos causados por fitonematoides em batata são de ordem qualitativa, cujas perdas são estimadas em 12,2% ao ano, podendo chegar a 100% (SASSER; FRECKMAN, 1987; SILVA; SANTOS, 2007). Desta forma, esses patógenos são considerados como um fator limitante à cultura da batata (PINHEIRO; LOPES, 2011).

Entre os fitonematoides de maior importância à bataticultura, no mundo, o nematoide dos cistos representados pelas espécies *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Skarbilovich e *G. pallida* (Stone) podem causar perdas de até 100% da área plantada (CHARCHAR, 1997). Em países vizinhos ao Brasil como Argentina, Peru, Bolívia, Equador, Colômbia, Uruguai e Paraguai este nematoide se encontra disseminado (WALLACE; FAVRIN, 1998), porém no país, ainda é uma praga quarentenária ausente de alerta máximo (BRASIL, 2008; MAPA, 2013). Além dessas espécies, *Nacobbus aberrans* (Thorne) Allen e *N. dorsalis* (Thorne e Allen), denominados como 'falso nematoide das galhas', e o 'nematoide da podridão da batata' *Ditylenchus destructor* (Thorne) podem causar grandes danos na cultura, e, da mesma forma, são consideradas pragas quarentenárias ausentes para o Brasil (MAPA, 2013).

Outro grupo de fitonematoides que causa sérios problemas na cultura da batata são os nematoides das galhas, gênero *Meloidogyne*, os quais apresentam ampla distribuição geográfica, ocorrendo em clima tropical e subtropical e temperado (JATALA, 1986). Esses patógenos interferem na produção inviabilizando, assim, a qualidade e o valor comercial dos tubérculos (TORDABLE et al., 2008; VOVLAS et al., 2005; CHAVES; TORRES, 2001). Entre as espécies de *Meloidogyne* de importância global, citam-se *M. incognita* (Kofoid e White), Chitwood, *M. javanica* (Treb) Chitwood e *M. arenaria* (Neal) Chitwood de clima tropical e subtropical, e, as espécies

M. hapla (Chitwood), *M. fallax* (Karsen) e *M. chitwood* (Chitwood), de clima temperado (BRODIE; EVANS; FRANCO, 1993).

Os primeiros relatos do nematoide das galhas na cultura de batata, no Brasil, foram realizados por Deslandes (1935) e Berthet (1955), onde os autores observaram danos nas raízes das plantas de batata, no estado de São Paulo. Posteriormente, Galli et al., (1968) relataram *M. incognita* e *M. javanica* como as espécies que ocorrem na batata. A partir dos anos 70, outros fitonematoides como *M. arenaria*, *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & S. Stekhoven, *Helicotylenchus dihystera* (Cobb) Sher, *Xiphinema brasiliense* Lordello, *Ditylenchus dipsaci*, *Criconemoides* sp., *Peltamigratus ibiboca* Monteiro & Choudhury, *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira e *Trichodorus* sp. foram associados à rizosfera da cultura da batata (BOOCK; LORDELLO, 1976; LOPES; LORDELLO (1980). Em levantamentos nematológicos conduzidos nos anos 90, em diferentes áreas de produção de batata no país, verificou-se a presença de *M. incognita* e *M. javanica* na maioria das áreas amostradas, e, *M. arenaria* e *M. hapla*, em áreas restritas (CHARCHAR, 1995; 1997), além da ocorrência de *P. coffeae* (CURI et al., 1990) associada a prejuízos.

A partir de 2000, os trabalhos conduzidos no Brasil, envolvendo o gênero *Meloidogyne*, foram focados especialmente nas espécies *M. javanica* e *M. incognita* devido a sua patogenicidade e ampla distribuição nas diferentes regiões batateiras do País (SILVA, 2009; SILVA et al., 2010; CHARCHAR; MOITA, 2001; CHARCHAR, 2001). Segundo Charchar (2001), esse fato atribuíam-se a habilidade dessas espécies de se reproduzirem em regiões com temperaturas do solo que oscilavam entre 18-32°C, permitindo assim, o aumento das populações do nematoide das galhas nas áreas de cultivo de batata. No Brasil, estimam-se perdas de 20%, podendo ser maior devido ao descarte de tubérculos com sintomas visíveis (CAFÉ FILHO, 1987; GOMES; SOUZA, 2003).

A partir da eclosão, o nematoide das galhas desenvolve todo o seu ciclo de vida no interior da raiz da planta. O seu ciclo vital envolve quatro estádios juvenis (J1, J2, J3 e J4) até chegar à fase adulta (macho e fêmea). O ciclo de *Meloidogyne* pode variar de 21 a 45 dias dependendo das condições climáticas, da espécie do nematoide e da planta envolvida (GOMES; SOUZA, 2003; WHITEHEAD, 1998; MAI et al., 1980). Este nematoide pode completar até três ciclos, e, posteriormente, invadir os tubérculos inviabilizando a sua comercialização (BROWN et al., 2006).

Desta forma, o conhecimento do ciclo de vida de *Meloidogyne* é importante para tomar decisões no controle desta praga, pois em diferentes regiões do país são utilizadas cultivares que apresentam ciclos curtos como a cv. Agata (MELO et al., 2003), e, de ciclos vegetativos mais prolongados, como é o caso da cv. BRS Clara (PEREIRA, 2010).

Os sintomas causados pelo nematoide das galhas em plantas de batata, geralmente estão associados à redução da parte aérea, amarelecimento foliar e murchamento nas horas mais quentes do dia. No sistema radicular, observa-se elevado número de galhas e formação de protuberâncias nos tubérculos denominadas de 'empipocamentos' ou 'pipocas', os quais, além de terem o aspecto visual afetado inviabilizando sua comercialização, tendem a apodrecer rapidamente no solo ou em armazenamento (TOKESHI; BERGAMIN, 1978; FERRAZ; MENDES, 1992; SILVA, 2009).

O segundo grupo de fitonematoides causadores de danos na cultura de batata estão relacionados aos nematoides das lesões (*Pratylenchus* spp.), os quais se encontram distribuídos em quase todas as regiões do Brasil onde a cultura é plantada (SILVA, 2009; SILVA; SANTOS, 2007; CHARCHAR; MOITA, 2001). Dentre as espécies de *Pratylenchus* encontradas na batata, *P. brachyurus*, *P. coffeae* Zimmermann e *P. zaeae* Graham são as mais frequentes (FERRAZ, 1999). Entretanto, os danos causados por *Pratylenchus* sp. quando comparado com os de *Meloidogyne* sp., são completamente distintos, além disso, seus ciclos de vida, também são diferentes (PINHEIRO; LOPES, 2011). Sintomas causados por *Pratylenchus* spp. em batata, normalmente são percebidos em manchas em reboleiras, onde nota-se o atraso no desenvolvimento das plantas, necrose nas radículas e lesões escuras nas lenticelas dos tubérculos, as quais prejudicam o aspecto visual e afetam a comercialização (SILVA; SANTOS, 2007), evidenciando, assim, a importância de se estudar a patogenicidade desse nematoide na cultura da batata.

Dentre as medidas mais preconizadas no controle dos nematoides das galhas na cultura, em nossas condições, o plantio de tubérculos-sementes sadios em áreas isentas de *Meloidogyne* spp. e a rotação de culturas com espécies más hospedeiras, são as principais alternativas (NAZARENO; GOMES, 2010). Os nematicidas, além de serem pouco efetivos, são altamente tóxicos e com capacidade de acumulação residual nos tubérculos quando aplicados na amontoa da batata (BROWN et al.,

1991; CHARCHAR, 1995). Assim, o uso da resistência genética é considerado uma das práticas de controle mais desejadas por ser economicamente viável e acessível aos produtores, e não representar riscos a saúde humana e ao meio ambiente. Entretanto, existem poucos materiais genéticos resistentes a *Meloidogyne* spp. disponíveis no mercado brasileiro (GOMES, 2010). Situação semelhante ocorre em relação ao nematoide das lesões, pois mesmo ocorrendo em diferentes regiões produtoras de batata no Brasil (SILVA, 2009), pouco se sabe sobre o nível de resistência das cultivares comercializadas no país a *Pratylenchus* spp.

Clones resistentes de batata a *Meloidogyne* spp., foram selecionados em outros países, por cruzamento de *S. tuberosum* com espécies silvestres (*S. bulbocastanum*, *S. chacoense*, *S. sparsipilum*, dentre outras) (JATALA, 1975; JATALA; WATANABE; GUEVARA, 1991; AUSTIN, et al., 1993). Apesar de existirem espécies de batata silvestres (*Solanum* spp.) que representam uma grande reserva de diversidade genética para genes de resistência a doenças (VAN DER BEEK et al., 1998), poucos acessos apresentam resistência às espécies de *Meloidogyne* que ocorrem em batata no Brasil, uma vez que esses materiais têm sido usado principalmente para cruzamentos em programas de melhoramento europeus visando resistência a *M. hapla* (PINHEIRO; LOPES, 2011), dentre outras espécies de importância quarentenária para o Brasil (STARR; COOK; BRIDGE, 2002), e, que, portanto, não ocorrem no país.

Considerando-se a importância econômica da batata para a Região Sul do Brasil e a necessidade de estudos sobre a ocorrência, danos e resistência genética para o manejo de *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* spp., o presente estudo foi dividido em três capítulos:

- No primeiro capítulo, teve-se por objetivo, caracterizar bioquímica e molecularmente as espécies do nematoide das galhas em batata e identificar as espécies de *Pratylenchus* spp. presentes na cultura em diferentes áreas produtoras dos Estados do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina;
- No segundo capítulo, avaliou-se a agressividade de quatro populações de *M. javanica* provenientes de diferentes Estados da Região Sul do Brasil em duas cultivares de batata;
- E, no terceiro capítulo, teve-se por objetivo, avaliar a reação de cultivares comerciais e acessos silvestres de batata a *Meloidogyne* spp. e *P. brachyurus*; e, estudar

o ciclo de vida de *M. javanica* em genótipos de batata resistente e suscetível a *M. javanica*.

2 CAPÍTULO I - Levantamento e caracterização do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) e das lesões (*Pratylenchus* spp.) em batata nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná.

2.1 Introdução

A produção de batata na região Sul do Brasil é representada pelos Estados do Rio Grande do Sul (RS), Paraná (PR) e Santa Catarina (SC) com 674,28; 351,72 e 122,26 toneladas respectivamente, o que representa mais da quarta parte da produção total no Brasil (IBGE, 2012).

Diferentes espécies de nematoides fitoparasitas representam sérios problemas ao cultivo da batata em praticamente todas as regiões do globo onde essa espécie é cultivada. Conforme Prasad (1993), mais de 140 espécies, distribuídas em 45 gêneros de fitonematoides, tem sido encontradas associadas aos cultivos de batata no mundo inteiro, cujas perdas médias são estimadas em 12%, (BARKER; KOENNING, 1998) podendo até comprometer toda a produção (PINHEIRO; LOPES, 2011). No entanto, as perdas podem ser variáveis em função dos fitonematoides envolvidos, seus níveis populacionais, da suscetibilidade da cultivar, além do período de cultivo do ano (SILVA; SANTOS, 2007).

No Brasil, os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) e o das lesões (*Pratylenchus* spp.) são os mais frequentes e relacionados a danos na cultura da batata (CHARCHAR, 1997; SILVA, 2009). Em trabalhos conduzidos por Charchar (1995) e Charchar e Moita (2001), os autores verificaram que *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) e *M. javanica* (Treub) Chitwood, *M. arenaria* (Neal) Chitwood, e *M. hapla* Chitwood foram as espécies do nematoide das galhas associadas às regiões brasileiras produtoras de batata, sendo as duas primeiras, as mais frequentes. Porém, no

último estudo da ocorrência do gênero *Meloidogyne* realizado no Brasil, *M. javanica* foi a espécie predominante em todas as região produtoras de batata amostradas no país (sul, sudeste e centro-oeste) (SILVA, 2009).

Em levantamentos do nematoide das lesões realizados no Brasil, registra-se a ocorrência de *P. brachyurus*, *P. penetrans*, *P. coffeae* e *P. zae* (LOPES; LORDELLO, 1980; CURI et al., 1990; CHARCHAR, 1997; FERRAZ, 1999; SILVA; SANTOS, 2007; SILVA, 2009). No último estudo da distribuição e frequência do gênero *Pratylenchus* em batata, Silva e Santos, (2007) verificaram a predominância de *P. brachyurus* sobre as demais espécies, nas regiões Centro – Oeste, Sudeste e Sul, confirmando os resultados obtidos por Charchar (1999) em estudo anterior. Apesar de *Pratylenchus* spp. estar amplamente distribuído nas mais diversas espécies vegetais do Brasil, e haver relatos de danos em batata (LOPES e LORDELLO, 1980; CURI et al., 1990), até o momento, existem poucos registros de perdas causadas por esses nematoides na cultura da batata, no sul do país.

Em áreas de produção de batata infestadas pelos nematoides das galhas e das lesões, o primeiro passo para realização de um manejo adequado é a identificação da(s) espécie(s) que ocorrem no local. Em relação ao gênero *Meloidogyne*, a identificação das espécies, em muitos locais, ainda é realizada através de estudos clássicos pela observação dos caracteres morfológicos e morfométricos com o auxílio de microscópio óptico e microscópio eletrônico de varredura (EISENBACK; HIRSCHMANN, 1979, 1980; EISENBACK; HIRSCHMANN; TRIANTAPHYLLOU, 1980). Da mesma forma, o exame da configuração perineal das fêmeas e o teste com hospedeiros diferenciadores (HARTMANN; SASSER, 1985) também são métodos utilizados na prática. Porém, identificações precisas das espécies somente por essas técnicas são morosas, e difíceis para serem utilizadas rotineiramente, sendo uma tarefa difícil, mesmo para um nematologista com grande experiência no gênero *Meloidogyne* (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001).

O uso de métodos bioquímicos através de padrões eletroforéticos por isoenzimas tem demonstrado que as principais espécies do nematoide das galhas podem ser identificadas com o uso de proteínas, com maior precisão, caracterizando essa técnica como uma ferramenta excelente e rápida para o uso na taxonomia do gênero *Meloidogyne* (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1985, 1990; CARNEIRO; ALMEIDA; CARNEIRO, 1996; CARNEIRO; ALMEIDA; QUÉNÉHÉRVÉ, 2000). Em

trabalho recente realizado por Silva (2009), a autora observou dois fenótipos de esterase em populações de *M. javanica* provenientes de plantas de batata coletadas em diferentes regiões do Brasil, porém o estudo não foi conclusivo quanto a variabilidade entre essas populações.

Para o estudo de variabilidade genética intraespecífica de populações de *Meloidogyne* spp., o uso de marcadores moleculares é bem mais eficiente e, pode permitir revelar polimorfismo entre organismos relativamente próximos (COFCEWICZ, 2003; MUNIZ et al., 2008; TIGANO, et al., 2010). Métodos baseados em PCR (Polymerase Chain Reaction) tem demonstrado que são rápidos, independentemente do estágio do ciclo de vida do nematoide e são muito mais confiáveis (ZIJLSTRA, 2000). A técnica de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) pode revelar considerável polimorfismo, mesmo entre organismos estreitamente relacionados, sendo extremamente interessante para estudos de variabilidade intraespecífica (RANDING et al., 2002; CARNEIRO et al., 2004a).

Em relação ao gênero *Pratylenchus*, caracteres morfoanatômicos e morfométricos são utilizados na determinação das espécies com auxílio de microscópio óptico e microscópio eletrônico de varredura, conjuntamente com chave biométrica (CASTILLO; VOVLAS, 2005).

Embora algumas metodologias baseadas na caracterização bioquímica e molecular possibilitem a identificação de algumas espécies de nematoides, não existem padrões ou marcadores moleculares para todas as espécies descritas. Nesse caso, estudos, baseados em morfologia e morfometria são ainda essenciais (R.M.D.G. Carneiro, comunicação pessoal).

Considerando-se a importância do nematoide das galhas e das lesões na cultura da batata e a necessidade de estudos mais detalhados sobre a variabilidade do gênero *Meloidogyne* e a ocorrência de espécies do gênero *Pratylenchus*, nas regiões bataticultoras do sul do Brasil, foram objetivos no presente trabalho: caracterizar bioquímica e molecularmente as espécies do nematoide das galhas em batata e identificar as espécies de *Pratylenchus* presentes na cultura em diferentes áreas produtoras dos Estados do RS, PR e de SC.

2.2 Material e métodos

2.2.1 Caracterização do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) e das lesões (*Pratylenchus* spp.) em regiões produtoras de batata dos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná.

Entre os anos de 2009 e 2011, amostras de raízes e tubérculos de batata foram coletadas em diferentes áreas de produção comercial dos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, os quais foram avaliados quanto à presença de nematoides, caracterizando as principais espécies do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) e das lesões (*Pratylenchus* spp.) e estabelecendo as suas distribuições.

A coleta de amostras foi realizada com o apoio da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER), no Rio Grande do Sul, Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), em Santa Catarina, e do Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR), no Paraná. No Estado do Rio Grande do Sul, foram coletadas amostras na região Sul (Municípios de São Lourenço, Canguçu e Cristal), região Central (Município de Silveira Martins), região Norte (Municípios de Ibiraiaras, Bom Jesus, São José dos Ausentes e São Francisco de Paula), e na região da Serra (Municípios de Nova Petrópolis, Santa Maria do Herval, Morro Reuters e Gramado); em Santa Catarina nas regiões Planalto Alto (Municípios de Itaiópolis, Irineópolis, Canoinhas, Major Vieira, Mafra e Três Barras), e Alto Vale do Itajaí (município de Itajaí e Água doce); e, no Paraná, nas regiões Metropolitana (municípios Guarapuava, Lapa, Araucária, Contenda, Castro e Ponta Grossa), Sudoeste Paranaense (Município de Palmas), e no Centro-sul paranaense (Município de Pinhão) (Figura 1).

As amostras foram coletadas percorrendo-se o terreno de cada lavoura de batata em zigue-zague, determinando-se um número médio de 10 subamostras/amostra/ha (FERRAZ; MONTEIRO, 1995). Procederam-se as coletas de raízes e tubérculos de batata a uma profundidade de 0 a 25 cm da superfície do solo. Plantas com sintomas de amarelecimento e nanismo, em reboleiras, foram coletadas separadamente. A seguir, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, etiquetados e identificados quanto a cultivar e origem do material e

levadas ao Laboratório de Fitopatologia/Nematologia da Embrapa Clima Temperado – Pelotas/RS, para avaliação da presença e caracterização da(s) espécie(s) de *Meloidogyne*, e de *Pratylenchus*.

Em laboratório, as raízes de cada amostra foram lavadas, sendo parte dessas (10g), triturada em liquidificador conforme metodologia de Hussey e Barker (1973) modificada por Bonetti e Ferraz (1981), cuja suspensão obtida, foi avaliada sob microscópio estereoscópico quanto à presença, e número de nematoides dos gêneros *Meloidogyne* e *Pratylenchus*, quando detectados (MAI; MULLIN, 1996).

Para identificação das espécies do nematoide das galhas, fêmeas foram extraídas das raízes de batata e caracterizadas bioquimicamente através da técnica de eletroforese, utilizando-se a enzima esterase (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001). Uma vez identificadas, as populações puras de *Meloidogyne* spp., foram inoculadas em plantas de tomate cv. Santa Cruz e mantidas em vasos com solo autoclavado em casa de vegetação a $25\pm 5^{\circ}\text{C}$, para posteriores estudos bioquímicos e moleculares.

Para identificação das espécies de *Pratylenchus*, foram montadas lâminas temporárias com 20 fêmeas e levadas a microscópio para sua respectiva medição e identificação dos espécimes. Objetivas de 10X, 20X e 40X e objetivas de imersão 60X e 100X, com oculares de 15X foram utilizadas para análise dos espécimes para as fotos de micrografias. Foi utilizada uma fotocular de 2,5X sendo as mensurações realizadas nas imagens digitalizadas, utilizando-se o Software Image-Pro® Plus 4,1 (Media cybernetics, 8484 Georgia Avenue, Silver Spring, MD 20910, EUA). A identificação das espécies foi realizada com base nas características morfológicas e morfométricas de formas juvenis e adultas dos espécimes observados utilizando-se a chave de Loof (1991).

2.2.2 Caracterização bioquímica das espécies de *Meloidogyne* spp.

Quarenta fêmeas adultas de *Meloidogyne* spp. de coloração branca leitosa, provenientes de cada amostra, foram retiradas de raízes de batata com o auxílio de um estilete de ponta fina sobre microscópio estereoscópico. As massas de ovos das respectivas fêmeas foram armazenadas individualmente em microtubos (*ependorf*) contendo solução salina a 0,1%, com objetivo de axenizar as espécies detectadas em mistura (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001). Cada uma das fêmeas retiradas do

interior das raízes foi colocada em um tubo capilar mantido em gelo com 2-3 μL de solução tampão de extração da enzima esterase (tampão sacarose).

Após a coleta das fêmeas, foi realizada a preparação de um gel de poliacrilamida a 6% (11 x 18 cm, 1 mm de espessura), sendo as mesmas maceradas individualmente e a respectiva suspensão, adsorvida em papel de filtro qualitativo (whatman 3mm). Cada fração de papel com a respectiva amostra foi colocado separadamente no gel, e, em cada um deles, foi depositada uma gota de azul de bromofenol (0,01%). Utilizou-se como padrão, o extrato proteico de uma população pura de *M. javanica*, o qual foi depositado em duas cavidades do mesmo gel para garantir a comparação dos fenótipos encontrados (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001).

Feita a aplicação das amostras, o gel foi colocado em uma cuba contendo tampão proposto por Scandalios (1969), ligada a uma fonte de 80 volts, mantida em balcão frigorífico a 5°C, sendo a corrida eletroforética efetuada no sistema horizontal, através da técnica proposta por Smithies (1955) e modificada por Carneiro e Almeida (2001). Após o término da migração de 5 cm do azul bromofenol no gel (2 horas), a fonte foi desligada e o gel foi submetido à revelação da enzima esterase, utilizando-se uma solução de 50 mL de tampão fosfato (50mg de Fast Blue RR Salt e 1,5 mL de α -naftilacetato 1%). A seguir, o material foi levado à incubação onde permaneceu em estufa a 37°C por aproximadamente 20 – 30 min., até que as bandas esterásticas (escuras) aparecessem em fundo claro. Logo após, os géis foram transferidos para uma solução contendo 10% de ácido acético e 40% de solução de álcool metílico, por 30 min. Após a revelação e fixação, os géis foram colocados entre duas folhas de papel celofane e secos a temperatura ambiente.

A identificação dos fenótipos foi realizada através do cálculo da mobilidade relativa (R_m) de cada banda polimórfica em relação à primeira banda de *M. javanica*. Os fenótipos enzimáticos foram identificados por uma letra e um número que corresponderam, respectivamente, à inicial do nome específico, juntamente com o número de bandas (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1985, 1990). A ocorrência dos diferentes fenótipos observados foi expressa em percentual.

2.2.3 Caracterização molecular das populações de *Meloidogyne* spp.

2.2.3.1 Extração de ovos de *Meloidogyne* spp.

Para realização desse estudo, foram utilizadas 15 populações puras de *M. javanica* Est J3, uma de *M. javanica* Est J2a, uma de *M. incognita* Est I2, uma de *M. arenaria* Est A2 e uma de *M. ethiopica* Est E3, provenientes de raízes e tubérculos de batata (Tabela 1). Também foi utilizada uma população de *M. javanica* Est J2a proveniente de bananeira e multiplicada em tomate 'Santa Cruz', em casa de vegetação para comparação com o mesmo fenótipo proveniente da batata.

Tabela 1 - Código das populações utilizadas nas análises RAPD, origem geográfica, espécie de *Meloidogyne* e fenótipos de esterase presentes em amostras coletadas em áreas de batata. Pelotas/RS, 2013.

Código dos Isolado	N° amostra (Levantamento)	Procedência (Município/Estado)	Espécie	Fenótipo Esterase
Mj1	6	São Lourenço/RS	<i>M. javanica</i>	J3
Mj2	18	Ibiraíaras/RS	<i>M. javanica</i>	J3
Mj3	29	São J. dos Ausentes/RS	<i>M. javanica</i>	J3
Mj4	43	Silveira Martins/RS	<i>M. javanica</i>	J3
Mj5	49	Canguçu/RS	<i>M. javanica</i>	J3
Mj6	56	Nova Petrópolis/RS	<i>M. javanica</i>	J3
Mj7	58	Santa M. do Herval/RS	<i>M. javanica</i>	J3
Mj8	64	Gramado/RS	<i>M. javanica</i>	J3
Mj9	75	Cristal/RS	<i>M. javanica</i>	J3
Mj10	79	Palmital/SC	<i>M. javanica</i>	J3
Mj11	83	Irineópolis/SC	<i>M. javanica</i>	J3
Mj12	86	Itaiópolis/SC	<i>M. javanica</i>	J3
Mj13	92	Contenda/PR	<i>M. javanica</i>	J3
Mj14	100	Castro/PR	<i>M. javanica</i>	J3
Mj15	108	Contenda/PR	<i>M. javanica</i>	J3
Mj16	PJ2*	Cruz das Almas/BA	<i>M. javanica</i>	J2a
Mj17	47	Silveira Martins/RS	<i>M. javanica</i>	J2a
Mi18	14	São Lourenço/RS	<i>M. incognita</i>	I2
Ma19	20	Ibiraíaras/RS	<i>M. arenaria</i>	A2
Me20	110	Contenda/PR	<i>M. ethiopica</i>	E3

*PJ2- Isolado proveniente de banana.

RS = Rio Grande do Sul, SC = Santa Catarina, PR = Paraná, e BA = Bahia.

A partir das plantas infectadas com cada população de *Meloidogyne* sp. (Tabela 1), foi realizada a extração de ovos conforme metodologia descrita por Carneiro et al. (2004a). Dessa forma, as raízes de tomateiros infectadas com cada população, foram lavadas cuidadosamente, cortadas e trituradas separadamente em liquidificador com hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1,25% por 1 minuto em baixa rotação. A seguir, cada suspensão obtida, foi vertida sobre peneiras sobrepostas de 20, 100 e 635 Meshes. Os resíduos das raízes e os ovos coletados na peneira de 635 Mesh foram lavados com água corrente, e, a seguir, adicionou-se caulim à suspensão, que imediatamente foi centrifugada a 2.000 rpm por 5 min., sendo o sobrenadante eliminado. O volume dos tubos foi completado com solução de sacarose 30% a 4°C e centrifugado na mesma velocidade por 2 min. O sobrenadante foi recuperado em peneira 635 Mesh e lavado com água destilada. Posteriormente, os ovos de cada suspensão foram colocados em tubos de 15 mL, completando-se o volume com água estéril e centrifugados por 3 min. a 2.000 rpm. O sobrenadante foi vertido cuidadosamente, sendo os ovos pipetados e transferidos para tubos *ependorff* de 1,5 mL. Após uma centrifugação a 10.000 rpm por 2 min., o sobrenadante foi eliminado e os ovos armazenados a -80°C para posteriormente serem submetidos à extração de DNA.

2.2.3.2 Extração, purificação e precipitação do DNA

O DNA genômico de todas as populações de *Meloidogyne* foi extraído a partir de alíquotas de 200 a 500 µL de ovos, de acordo com a metodologia descrita por Randing et al. (2002).

Os ovos previamente extraídos e armazenados a -80°C foram macerados em nitrogênio líquido. O material foi recuperado em tubos *ependorf* de 1,5mL, onde foi adicionado 500 µL de tampão NIB (0,1 M NaCl; 30 mM Tris pH 8; 10 mM EDTA; 0,7 mM β-mercaptoetanol; 5 mM Triton – NPHO). A seguir, as amostras foram homogeneizadas e centrifugadas duas vezes a 14.000 rpm por 2 min. e eliminado o sobrenadante. Em seguida foram acrescentados 800 µL de tampão de homogeneização (0,1 M NaCl; 0,2 M sacarose; 10 mM EDTA) e 200 µL do tampão de lise (0,125 M EDTA; 0,5 M Tris pH 9,2; 2,3 % SDS). Após a homogeneização, as

amostras foram incubadas a 55°C por 30 min., seguido de 10 min. à temperatura ambiente.

A purificação foi realizada adicionando-se 1:1 (v/v) de fenol (1 mL), seguindo-se à homogeneização e centrifugação a 14.000 rpm por 3 min. Posteriormente, o sobrenadante foi recuperado e depois misturado a 1:½ (v/v) de fenol (500 mL) + 1:½ (v/v) de clorofórmio (500 mL) e centrifugado a 14.000 rpm por 3 min. Ao sobrenadante, foram adicionados 200 µL de éter, e, após a centrifugação a 14.000 por três min., o mesmo foi eliminado com o auxílio de uma micropipeta.

Para precipitação do DNA, 1:1 (v/v) de etanol 100% foi adicionado ao sobrenadante, efetuando-se a homogeneização e observando-se a formação do pélete. O DNA foi recuperado com auxílio de uma pipeta de Pasteur esterilizada de ponta fechada, e, em seguida, lavado com etanol 70%, seco à temperatura ambiente, recuperado em 20 µL de água esterilizada (Milli-Q) e armazenado a -20°C. Da mesma forma, foi efetuado um método adicional de extração, quando o DNA apresentava-se fragmentado. Para tanto, a precipitação foi efetuada a -80°C durante 30 min. Em seguida, realizou-se uma centrifugação a 14.000 rpm por 5 min. e foi eliminado o etanol. O precipitado foi seco à temperatura ambiente, recuperado em 10-20 µL de água esterilizada (Milli-Q) e armazenada a -20°C. A concentração de DNA foi estimada em gel de agarose a 1% pela comparação do DNA total com diferentes concentrações de DNA *lambda* e as amostras foram armazenadas a -20°C (RANDIG et al., 2002).

2.2.3.3 Análise molecular com marcador RAPD (DNA polimórfico amplificado ao acaso)

Foram utilizadas 20 populações de *Meloidogyne* spp. purificadas (item 2.2.3.1) e provenientes de batata dos estados RS, SC e PR (Tabela 1), conjuntamente com os 30 primers RAPD utilizados (Tabela 2).

As reações de PCR (Reação de Polimerização em Cadeia)-RAPD de cada população foram realizadas em volume final de 13 µL, contendo 3 µL de DNA total [3ng/ µL]; 0,4 µL de cada primer [10µM]; 2,0 µL de dNTP [1,25mM]; 1,3 µL de tampão 10X pht com MgCl₂; 0,2 µL da enzima Taq DNA polimerase (5 U/ µL) e 6,1 µL de água Milli-Q. Foram utilizados na análise um total de 30 primers (Tabela 2).

As ampliações foram realizadas em termociclador (PTC-100, MJ Research) programado com as condições descritas por Randig et al. (2002): 1 min. a 94°C, 40 ciclos de 20 seg. a 94°C, 30 seg. a 36°C e 2 min. a 70°C. A seguir, os fragmentos amplificados do marcador, foram separados por meio de eletroforese em gel de agarose a 1,5% em tampão TBE 0,5X (90mM Tris-básico, 89 mM ácido bórico, 2 mM EDTA, pH 8,3), à uma corrente constante de 120 mA, corado com brometo de etídio (0,2 µg/ mL) e visualizados sob luz UV.

Tabela 2 - Primers RAPD e suas respectivas sequências 5'-3' utilizados em reações de PCR para o estudo da variabilidade genética de populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de batata da Região Sul do Brasil. Pelotas/RS, 2013.

Número	Primer RAPD	Sequencia 5' → 3'
1	A01	CAG GCC CTT C
2	A04	AAT CGG GCT G
3	A07	GAA ACG GGT G
4	A12	TCG GCG ATA G
5	A13	CAG CAC CCA C
6	A14	TCT GTG CTG G
7	AB02	GGA AAC CCC T
8	AB03	TGG CGC ACA C
9	AB04	GGC ACG CGT T
10	B05	TGC GCC CTT C
11	B07	GGT GAC GCA G
12	B09	TGG GGG ACT C
13	B11	GTA GAC CCG T
14	B17	TCG CAT CCA G
15	B20	GGA CCC TTA C
16	C02	GTG AGG CGT C
17	C07	GTC CCG ACG A
18	C18	TGA GTG GGT G
19	E07	AGA TGC AGC C
20	E18	GGA CTG CAG A
21	G02	GGC ACT GAG G
22	G03	GAG CCC TCC A
23	G13	CTC TCC GCC A
24	J20	AAG CGG CCT C
25	K01	CAT TCG AGC C
26	L19	GAG TGG TGA C
27	M10	TCT GGC GCA C
28	N20	GGT GCT CCG T
29	P01	GTA GCA CTC C
30	P02	TCG GCA CGC A

2.2.3.4 Análise filogenética

Os fragmentos de DNA revelados com o uso de marcadores RAPD, foram registrados como presentes (1) ou ausentes (0) para posteriormente serem convertidos em uma matriz binária, que foi utilizada como base para realização da análise filogenética tipo Parcimônia (Maximum Parsimony), utilizando-se o programa PAUP* v 4.0 (SWOFFORD, 2002). Algoritmos foram processados nesta matriz 0-1, e uma análise do tipo 'bootstrap' com 1000 repetições foi realizada para testar a significância das árvores (FELSENSTEIN, 1985), originando um dendograma de consenso.

2.3 Resultados e Discussão

Entre as 111 amostras de plantas de batata coletadas nos 20 municípios localizados nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná (Anexo 1), confirmou-se a presença do nematoide das galhas em 44, 43,75 e 35% das áreas amostradas, respectivamente, cuja predominância do gênero *Meloidogyne*, nos três estados, foi verificada nas cultivares Asterix e Agata (Tabela 3); e, em 'Baronesa', especificamente nas lavouras do RS. Os níveis populacionais de *Meloidogyne* spp. nas lavouras foram variáveis independentemente da cultivar e oscilaram entre 300 e 1360 J2/10g de raízes nas amostras onde o nematoide das galhas foi detectado.

Da mesma forma, também foi verificada a presença do nematoide das lesões (*Pratylenchus* spp.) em 28; 7,4 e 14,8% das amostras coletadas no RS, SC e PR respectivamente, cujos níveis populacionais do nematoide variaram entre 50 e 320 *Pratylenchus* sp./10 g de raízes/amostra principalmente nas cvs, Asterix e Agata (Tabela 4). Porém, convém ressaltar, que apenas em seis (8,82%) entre as 68 amostras onde foi detectada a presença de *Meloidogyne* spp. ou *Pratylenchus* spp., verificou-se a presença concomitante de ambos os nematoide em raízes ou tubérculos de batata, parecendo haver um certo antagonismo entre esses dois gêneros (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3 - Fenótipos isoenzimáticos de esterase e suas respectivas percentagens de ocorrência e níveis populacionais/amostra observados em 57 populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de áreas de batata do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e do Paraná. Pelotas/RS, 2013.

Amostra	Procedência (Municípios/Estado)	Cultivar	Espécies de <i>Meloidogyne</i>	Fenótipos (Esterase)	Ocorrência (%)	Nº de J2 de <i>Meloidogyne</i> sp./10 g de raízes
1	São Lourenço/RS	Baronesa	<i>M. javanica</i>	J3	100	750
2	São Lourenço/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>	J3	100	490
3	São Lourenço/RS	Macaca	<i>M. javanica</i>	J3	100	1120
4	São Lourenço/RS	Baronesa	<i>M. javanica</i>	J3	100	810
5	São Lourenço/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>	J3	100	960
6	São Lourenço/RS	BRS Ana	<i>M. javanica</i>	J3	100	720
7	São Lourenço/RS	Baronesa	<i>M. javanica</i>	J3	95,0	910
			<i>M. arenaria</i>	A2	5,0	
8	São Lourenço/RS	Baronesa	<i>M. javanica</i>	J3	100	270
9	São Lourenço/RS	BRS Ana	<i>M. javanica</i>	J3	100	750
10	São Lourenço/RS	Macaca	<i>M. javanica</i>	J3	93,9	840
			<i>M. incognita</i>	I2	4,1	
			<i>M. javanica</i>	J2	2,0	
11	São Lourenço/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>	J3	100	510
14	São Lourenço/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>	J3	42,2	480
			<i>M. incognita</i>	I2	57,8	
15	São Lourenço/RS	Agata	<i>M. javanica</i>	J3	100	920
18	Ibiraiaras/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>	J3	94,1	1010
			<i>M. javanica</i>	J2a	5,9	

Amostra	Procedência (Municípios/Estado)	Cultivar	Espécies de <i>Meloidogyne</i>	Fenótipo (Esterase)	Ocorrência (%)	Nº de J2 de <i>Meloidogyne</i> sp./10 g de raízes
20	Ibiraiaras/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>	J3	68,9	820
			<i>M. arenaria</i>	A2	31,1	
29	São J. dos Ausentes/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>	J3	100	310
36	São F. de Paula/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>	J3	100	480
43	Silveira Martins/RS	Macaca	<i>M. javanica</i>	J3	100	600
47	Silveira Martins/RS	Asterix e Macaca	<i>M. javanica</i>	J3	81,1	770
			<i>M. javanica</i>	J2a	18,9	
48	Silveira Martins/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>	J3	100	1020
49	Canguçu/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>	J3	100	530
51	Canguçu/RS	Baronesa	<i>M. javanica</i>	J3	100	650
52	Canguçu/RS	Baronesa	<i>M. javanica</i>	J3	97,2	1100
			<i>M. javanica</i>	J2a	2,8	
53	Canguçu/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>	J3	100	300
56	Nova Petrópolis/RS	Asterix e Baronesa	<i>M. javanica</i>	J3	100	180
58	Santa M. do Herval/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>	J3	100	720
59	Santa M. do Herval/RS	Agata	<i>M. javanica</i>	J3	100	540
60	Santa M. do Herval/RS	Agata, Asterix e Macaca	<i>M. javanica</i>	J3	100	420
64	Gramado/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>	J3	100	1160
70	Gramado/RS	Asterix e Baronesa	<i>M. javanica</i>	J3	100	740

Amostra	Procedência (Municípios/Estado)	Cultivar	Espécies de <i>Meloidogyne</i>	Fenótipo (Esterase)	Ocorrência (%)	N° de J2 de <i>Meloidogyne</i> sp./10 g de raízes
71	Cristal/RS	Agata	<i>M. javanica</i>	J3	100	880
72	Cristal/RS	Baronesa	<i>M. javanica</i>	J3	92,3	830
			<i>M. javanica</i>	J2a	7,7	
75	Cristal/RS	Ana	<i>M. javanica</i>	J3	100	710
76	Agua Doce/SC	Agata	<i>M. javanica</i>	J3	100	340
79	Canoinhas/SC	Ana	<i>M. javanica</i>	J3	100	810
82	Major Vieira/SC	Ana	<i>M. javanica</i>	J3	100	580
83	Irineópolis/SC	Agata	<i>M. javancia</i>	J3	100	1010
84	Irineópolis/SC	Agata	<i>M. javanica</i>	J3	100	440
86	Itaiópolis/SC	Agata e Cupido	<i>M. javanica</i>	J3	100	830
88	Itaiópolis/SC	BRS Ana e BRS Clara	<i>M. javanica</i>	J3	100	1090
92	Contenda/PR	Agata	<i>M. javanica</i>	J3	100	1170
100	Castro/PR	Atlantic	<i>M. javanica</i>	J3	100	620
104	Araucária/PR	Agata	<i>M. javanica</i>	J3	100	850
107	Araucária/PR	Agata	<i>M. javanica</i>	J3	96,9	1360
			<i>M. incognita</i>	I2	3,1	
108	Contenda/PR	Asterix	<i>M. javanica</i>	J3	100	1070
110	Contenda/PR	Caesar e Agata	<i>M. ethiopica</i>	E3	100	1230 e 830
111	Lapa/PR	BRSIPR Bel	<i>M. javanica</i>	J3	100	1340

RS- Rio Grande do Sul; SC- Santa Catarina; PR- Paraná.

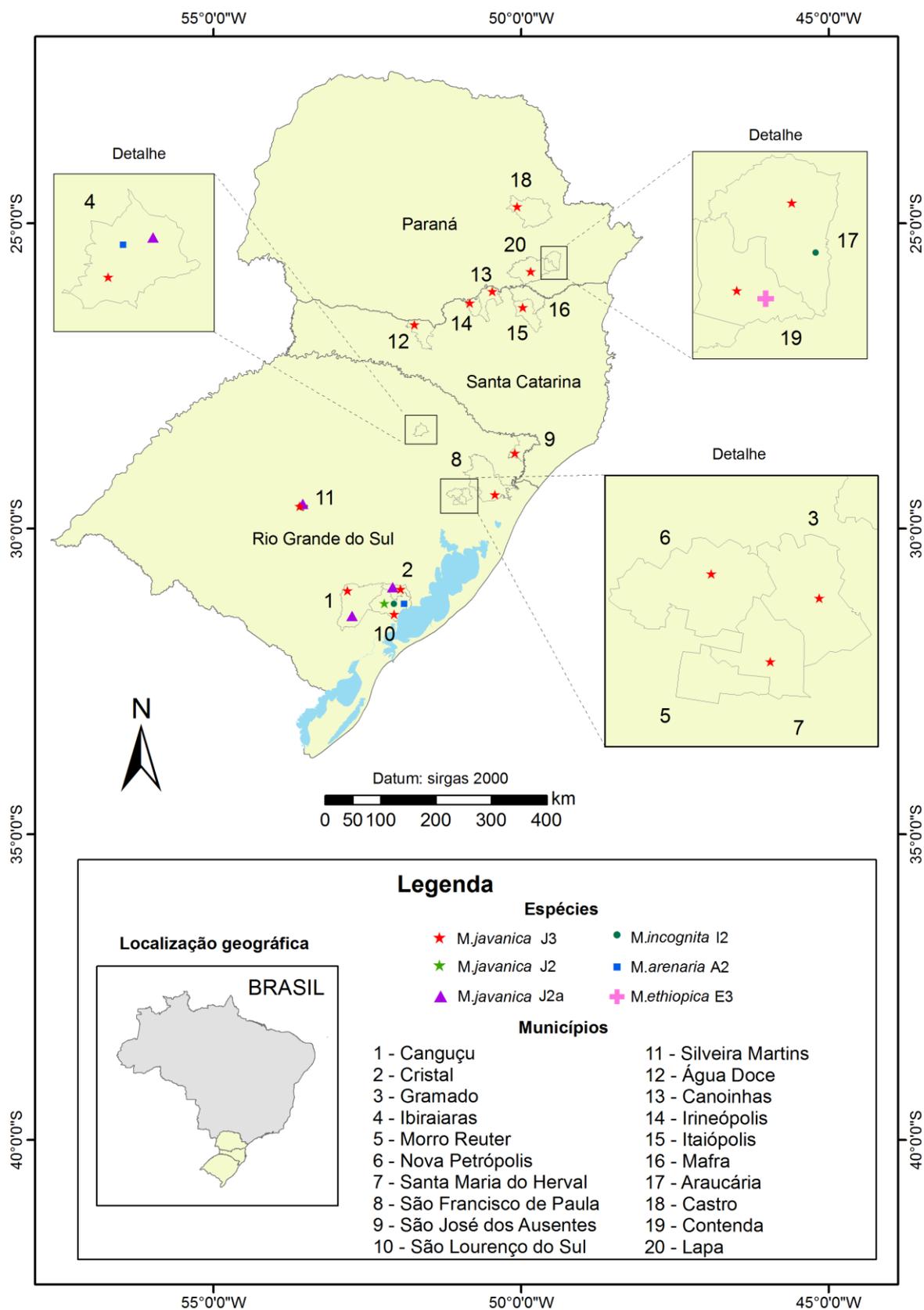


Figura 1- Localização e distribuição de espécies de *Meloidogyne* por município em áreas de batata nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Pelotas/RS, 2013.

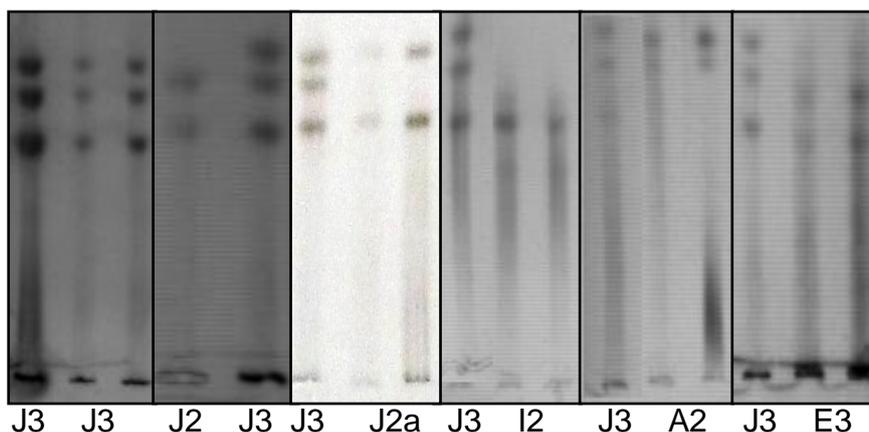
2.3.1 Caracterização bioquímica das populações de *Meloidogyne* spp.

Foram obtidas 42 populações de *Meloidogyne* spp. provenientes do Rio Grande do Sul, sete de Santa Catarina e oito do Paraná (Tabela 3). Entre as populações de *Meloidogyne* em estudo, foram identificados nove bandas esterásticas e seis fenótipos de esterase (Est) que corresponderam às espécies *Meloidogyne javanica* Est J3, *M. javanica* Est J2, *M. javanica* Est J2a, *M. incognita* Est I2, *M. arenaria* Est A2 e *M. ethiopica* Est E3, sendo *M. javanica* a espécie predominante (97,9%) nos três estados onde o nematoide das galhas foi detectado (Figura 2).

Nas amostras procedentes do Estado do Rio Grande do Sul (Figuras 1 e 2), foram detectadas 33 populações de *M. javanica* Est J3 (Rm: 1,00, 1,23, 1,40), quatro populações de *M. javanica* Est J2a (Rm: 1,0, 1,40) e uma população de *M. javanica* Est J2 (Rm: 1,0, 1,23) as quais corresponderam a 100, 12,1 e 3,0%, das amostras, cuja presença do nematoide das galhas foi detectada, respectivamente. Também foram encontradas duas populações de *M. incognita* Est I2 (Rm: 1,0, 1,09), e duas população de *M. arenaria* Est A2 (Rm: 1,2, 1,31), as quais corresponderam a 12,12% (6,06% em cada fenótipo) das amostras, respectivamente. Nas amostras coletadas em Santa Catarina foi observada a ocorrência de *M. javanica* Est J3 (Rm: 1,00, 1,23, 1,40) em todas as populações caracterizadas bioquimicamente. Por outro lado, nas amostras coletadas no Paraná, foi constatada a ocorrência de seis populações de *M. javanica* Est J3 (Rm: 1,00, 1,23, 1,40), uma população de *M. ethiopica* Est E3 (Rm: 0,92, 1,1, 1,25), e uma população de *M. incognita* Est I2 (Rm: 1,0, 1,09) as quais corresponderam a 85,7; 14,3 e 14,3% das amostras onde foi encontrado o nematoide das galhas, respectivamente (Figura 2).

Verificou-se a ocorrência de populações mistas de *Meloidogyne* spp. em 15,8% das amostras onde detectou-se o nematoide das galhas, sendo oito dessas, coletadas em lavouras do RS e em uma no PR. *Meloidogyne javanica* Est J3 esteve presente em todas as amostras com mistura de populações, e sua ocorrência foi predominante na maioria dos locais coletados em detrimento de outros fenótipos esterásticos de *M. javanica* ou diferentes espécies do gênero. Conforme Silva (2009), *M. javanica* ocasionalmente pode ocorrer associada com

outras espécies, porém misturas entre *M. javanica* e *M. incognita* podem ser mais severas à cultura da batata quando comparadas às infecções isoladas (CHARCHAR; MOITA, 1997). Porém, tais observações não foram possíveis de serem realizadas no presente estudo.



N° banda	Rm	<i>M. javanica</i>	<i>M. javanica</i>	<i>M. javanica</i>	<i>M. incognita</i>	<i>M. arenaria</i>	<i>M. ethiopica</i>
1	0.92	—		— ⁹		— ⁸	
2	1.00						
3	1.09	—	— ⁶			— ⁵	— ⁷
4	1.10						
5	1.20						— ⁴
6	1.23				— ³		
7	1.25	—	—	—	— ²		— ¹
8	1.31						
9	1.40						
Est		J3	J2	J2a	I2	A2	E3
RS%		100,0	3,0	12,1	6,06	6,06	
SC%		100,0					
PR%		85,7			14,3		14,3
% Geral		97,9	2,1	6,66	6,4	4,25	2,1

Figura 2 - Fenótipos de esterase (Est) detectados em 57 populações de *Meloidogyne* spp. coletadas em áreas produtoras de batata dos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná e suas respectivas percentagens de ocorrência. Pelotas/RS, 2013.

Analisando-se as percentagens de ocorrência do nematoide das galhas, de uma forma geral, verificou-se a presença e predominância de *M. javanica* Est J3, nos três estados do Sul do Brasil (RS, SC e PR), seguido de outros fenótipos de *M. javanica* (Est J2 e J2a) e espécies de menor expressão como *M. incognita* Est I2, *M. arenaria* Est A2 e *M. ethiopica* Est E3 (Figura 2).

Em levantamentos nematológicos realizados por Charchar (1997; 2001) na cultura da batata, o autor identificou, com base na configuração perineal das fêmeas, a presença de *M. incognita* e *M. javanica* em 48 e 37% das amostras analisadas, respectivamente; e, em menor número as espécies *M. arenaria* e *M. hapla*. No entanto, em levantamento recente realizado em várias regiões brasileiras produtoras de batata do país, Silva (2009) verificou que *M. javanica* com o fenótipo Est J3 foi a espécie mais frequente, fazendo alusão aos dados observados nesse estudo. Esse fenótipo de *M. javanica* também tem sido frequentemente observado no Sul do Brasil em outras culturas anuais como a soja e o feijão, hortaliças como tomate e em espécies frutíferas como pessegueiro, amoreira, quivi e videira (CARNEIRO; ALMEIDA; CARNEIRO, 1996; CASTRO; LIMA; CARNEIRO, 2003; SOMAVILLA et al., 2011; SOMAVILLA, 2011).

Entre os padrões esterásticos atípicos de *M. javanica* encontrados neste trabalho, o fenótipo Est J2 foi detectado em uma amostra do Estado do RS (Tabela 3). Tomaszewski et al. (1994) reportaram o mesmo fenótipo nos Estados Unidos na cultura do amendoim e o identificaram como uma subpopulação de *M. javanica*, apresentando apenas as duas bandas de menor mobilidade, conforme observado na Figura 2. Em levantamento realizado nas duas últimas décadas a ocorrência dessa subpopulação no Brasil foi relatada em diferentes culturas como tomate, arroz, cana de açúcar, milho, amora, mandioca, pimenta, fumo (CARNEIRO; ALMEIDA; CARNEIRO, 1996; CARNEIRO; CASTAGNONE-SERENO; DICKSON, 1998), soja (CASTRO; LIMA; CARNEIRO, 2003), banana (COFCEWICZ et al., 2004), quiabo (OLIVEIRA et al., 2007), figueira (GOMES et al., 2009) e videira (SOMAVILLA, 2011), sendo incomum a sua ocorrência em batata, no Brasil, até o momento.

Meloidogyne javanica com o fenótipo Est J2a foi identificada em mistura com populações de *M. javanica* Est J3 em quatro amostras coletadas em lavouras de

diferentes regiões do RS, compreendendo os municípios de Ibiraiaras, Silveira Martins, Canguçu e Cristal. Estas populações apresentaram as duas bandas de maior e menor mobilidade e ausência da banda de mobilidade intermediária (Figura 2). O fenótipo J2a de *M. javanica*, foi primeiramente reportado por Yu e Chen (1998) em fumo na China. No Brasil, foi relatado pela primeira vez por Castro (2001) na cultura da soja; posteriormente foi novamente registrada na mesma cultura (RIBEIRO, 2005) e em banana (COFCEWICZ, 2003; COFCEWICZ et al., 2004), e, mais recentemente, em batata no Rio Grande do Sul (SILVA, 2009), confirmando, assim, a ocorrência dessa subpopulação na cultura. Estudos realizados por diferentes pesquisadores, associam os fenótipos de Est J2 e J2a a *M. javanica*, e mencionam que tais fenótipos podem ser detectados em populações cujas fêmeas se encontram em má condição fisiológica ou em populações da mesma espécie (TOMASZEWSKI et al., 1994; YU; CHEN, 1998; CARNEIRO; CASTAGNONE-SERENO; DICKSON, 1998; COFCEWICZ et al., 2004; SOMAVILLA, 2011). Considerando-se esta hipótese, no Estado do Rio Grande do Sul o clima subtropical a temperado é predominante nos períodos de cultivo da batata, o que poderia causar algum tipo de estresse nas populações de *Meloidogyne* em perda de alguma banda de esterase, conforme relato de Van Gundy, (1985) citado por Silva (2009). No entanto, por ser uma espécie adaptada a clima ameno a quente, *M. javanica*, raramente é reportado na cultura da batata, em países de clima temperado.

A ocorrência de *M. incognita* Est I2, foi detectada em mistura com *M. javanica* Est J3 e Est J2, em uma amostra no RS, e em mistura com *M. javanica* Est J3, em uma amostra coletada no PR. Muito embora os níveis populacionais do nematoide das galhas tenham sido altos nas amostras onde essa espécie foi encontrada (Tabela 3), sua frequência foi baixa (<5%) comparada a *M. javanica*. No Brasil, *M. incognita* já foi relatado em áreas de batata nos Estados de Paraná (PR), Rio Grande do Sul (RS), Minas Gerais (MG), São Paulo (SP), Santa Catarina (SC), Goiás (GO), e Distrito Federal (DF) (CHARCHAR, 1997; GOMES; SOUZA, 2003). Em países como a Venezuela a ocorrência de *M. incognita* é expressiva podendo afetar mais de 80% das áreas cultivadas de batata. Da mesma forma, este patógeno pode ser encontrado em diferentes regiões da América Latina, Europa, África, Rússia, Índia, Austrália e Estados

Unidos (AL-HAZMI; IBRAHIM; ABDUL-RAZIG, 1993; BARKER; SCHMITT; IMBRIANI, 1985; JIMENEZ-PEREZ; CROZZOLI; GRECO, 2007). Essa espécie é considerada agressiva à cultura da batata no Brasil (CHARCHAR, 1995; 1997), sendo relatada frequentemente como predominante quando associada a *M. javanica*, condição atribuída a habilidade dessa espécie a se reproduzir em uma faixa de temperatura variando entre 18-31,5°C, (CHARCHAR; MOITA, 2001). Entretanto, no sul do Brasil, muito provavelmente as condições climáticas são desfavoráveis ao seu desenvolvimento em raízes e tubérculos de batata infectados, no período de cultivo, conforme também observado por Silva (2009).

M. arenaria Est A2 (Rm: 1,2, 1,31), foi encontrada em duas amostras de plantas de batata distribuídas no norte e sul do Estado do Rio Grande do Sul, também em mistura com *M. javanica* Est J3. Esta espécie já foi encontrada em vários Estados brasileiros do Sul, Sudeste e Centro-oeste (CHARCHAR, 1997; GOMES; SOUZA, 2003), porém, em frequência menor comparada às espécies *M. javanica* e *M. incognita* (CHARCHAR; MOITA, 2001; CHARCHAR; OLIVEIRA; MOITA, 2009).

No Paraná foi detectada a presença de *M. ethiopica* Est E3 (Rm: 0,92, 1,1, 1,25) em uma amostra de batata com as cultivares Agata e Caesar coletadas no município de Contenda (Tab. 3). No momento da coleta, as plantas infectadas com o nematoide apresentavam tamanho reduzido, sistema radicular repleto de galhas e sintomas de empipocamento severo nos tubérculos, conforme pode ser observado na Figura 3.

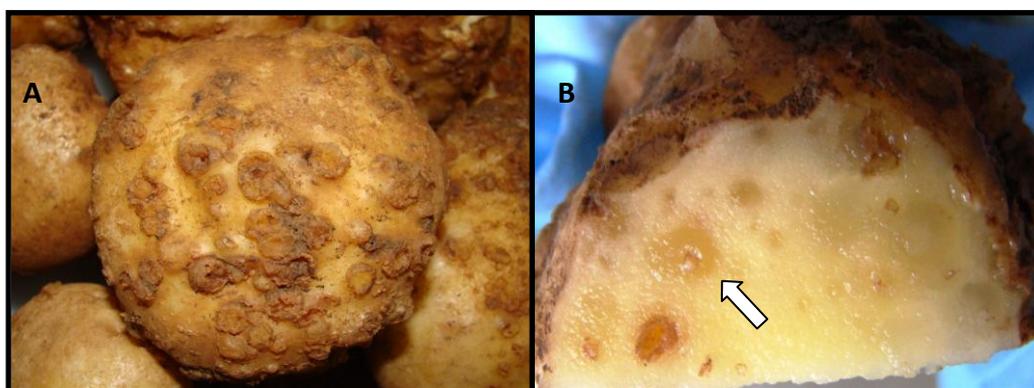


Figura 3 - Sintomas causados por *M. ethiopica* em tubérculos de batata. A: empipocamento; B: fêmeas de *M. ethiopica* infectando o tubérculo da cultivar Caesar. Pelotas/RS, 2013.

Meloidogyne ethiopica é considerada uma espécie danosa em espécies frutíferas como a videira no Chile (CARNEIRO et al., 2003; CARNEIRO et al., 2007) e quivi no Brasil (CARNEIRO et al., 2003), representando uma grande ameaça a essas fruteiras devido a sua difícil erradicação. Diversas espécies vegetais como caupi, alface, acácia, feijão fava, abóbora, repolho, pimentão, fumo, tomate, soja, sisal e plantas daninhas como catinga-de-bode, figueira do diabo, Maria pretinha e guanxuma são relatadas como hospedeiras de *M. ethiopica*, inclusive a batata (SOMAVILLA; GOMES; QUECINI, 2012; MEDINA, 2006; SIRCA et al., 2004; CARNEIRO, et al., 2003; WHITEHEAD, 1968). No entanto, esse é o primeiro registro da ocorrência de *M. ethiopica*, em plantas de batata, no Brasil (Figura 3).

2.3.2 Caracterização das populações de *Pratylenchus* spp.

Entres as 111 amostras de batata analisadas a presença do gênero *Pratylenchus* ocorreu em 29,97% das amostras coletadas nas diferentes áreas onde foi realizado o levantamento. De acordo com a Tabela 4 e Figura 4, no RS, foi detectada a presença do nematoide das lesões em 21 amostras. Entre estas, foram obtidas 17 populações identificadas como *P. brachyurus* e quatro que não foram passíveis de serem identificadas a nível específico (*Pratylenchus* sp.), as quais corresponderam a 81 e 19% das amostras, respectivamente. Em SC verificou-se a presença de *P. brachyurus* em apenas em duas amostras (7,4%), e, no PR, identificou-se *P. brachyurus* em quatro amostras (14,8%)

Tabela 4 - Espécies de *Pratylenchus*, identificadas em amostras de batata coletadas no Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, e seus respectivos níveis populacionais. Pelotas/RS, 2013.

Amostra	Procedência (Municípios/Estado)	Cultivares de batata	Espécie de <i>Pratylenchus</i>	Nº J2*/10 g raízes
16	Ibiraiaras/RS	Asterix	<i>Pratylenchus</i> sp.	130
18	Ibiraiaras/RS	Asterix	<i>P. brachyurus</i>	190
21	Ibiraiaras/RS	Asterix	<i>P. brachyurus</i>	220
26	Bom Jesus/RS	Agata	<i>P. brachyurus</i>	50
28	Bom Jesus/RS	Agata	<i>P. brachyurus</i>	80
32	São J. dos Ausentes/RS	Asterix	<i>P. brachyurus</i>	270
35	São F. de Paula/RS	Agata	<i>P. brachyurus</i>	110
38	São F. de Paula/RS	Agata	<i>Pratylenchus</i> sp.	80
40	São F. de Paula/RS	Asterix e Agata	<i>Pratylenchus</i> sp.	60
42	Silveira Martins/RS	Asterix	<i>P. brachyurus</i>	100
43	Silveira Martins/RS	Macaca	<i>P. brachyurus</i>	130
44	Silveira Martins/RS	Asterix	<i>Pratylenchus</i> sp.	220
54	Nova Petrópolis/RS	Baronesa	<i>P. brachyurus</i>	90
55	Nova Petrópolis/RS	Baronesa	<i>P. brachyurus</i>	290
56	Nova Petrópolis/RS	Asterix e Baronesa	<i>P. brachyurus</i>	450
59	Santa M. Herval/RS	Agata	<i>P. brachyurus</i>	150
63	Morro Reuters/RS	Agata, Baronesa e Macaca	<i>P. brachyurus</i>	270
64	Gramado/RS	Asterix	<i>P. brachyurus</i>	180
65	Gramado/RS	Asterix	<i>P. brachyurus</i>	50
71	Cristal/RS	Agata	<i>P. brachyurus</i>	40
73	Cristal/RS	Baronesa	<i>P. brachyurus</i>	120
80	Mafra/SC	Agata, BRS Ana e Elisa	<i>P. brachyurus</i>	170
87	Itaiópolis/SC	Asterix e Marquise	<i>P. brachyurus</i>	210
95	Pinhão/PR	Agata	<i>P. brachyurus</i>	180
101	Castro/PR	Agata	<i>P. brachyurus</i>	60
106	Araucária/PR	Asterix e BRS Ana	<i>P. brachyurus</i>	320
109	Contenda/PR	Agata	<i>P. brachyurus</i>	260

RS- Rio Grande do Sul; SC- Santa Catarina; PR- Paraná;*J2 = Juvenil de segundo estágio.

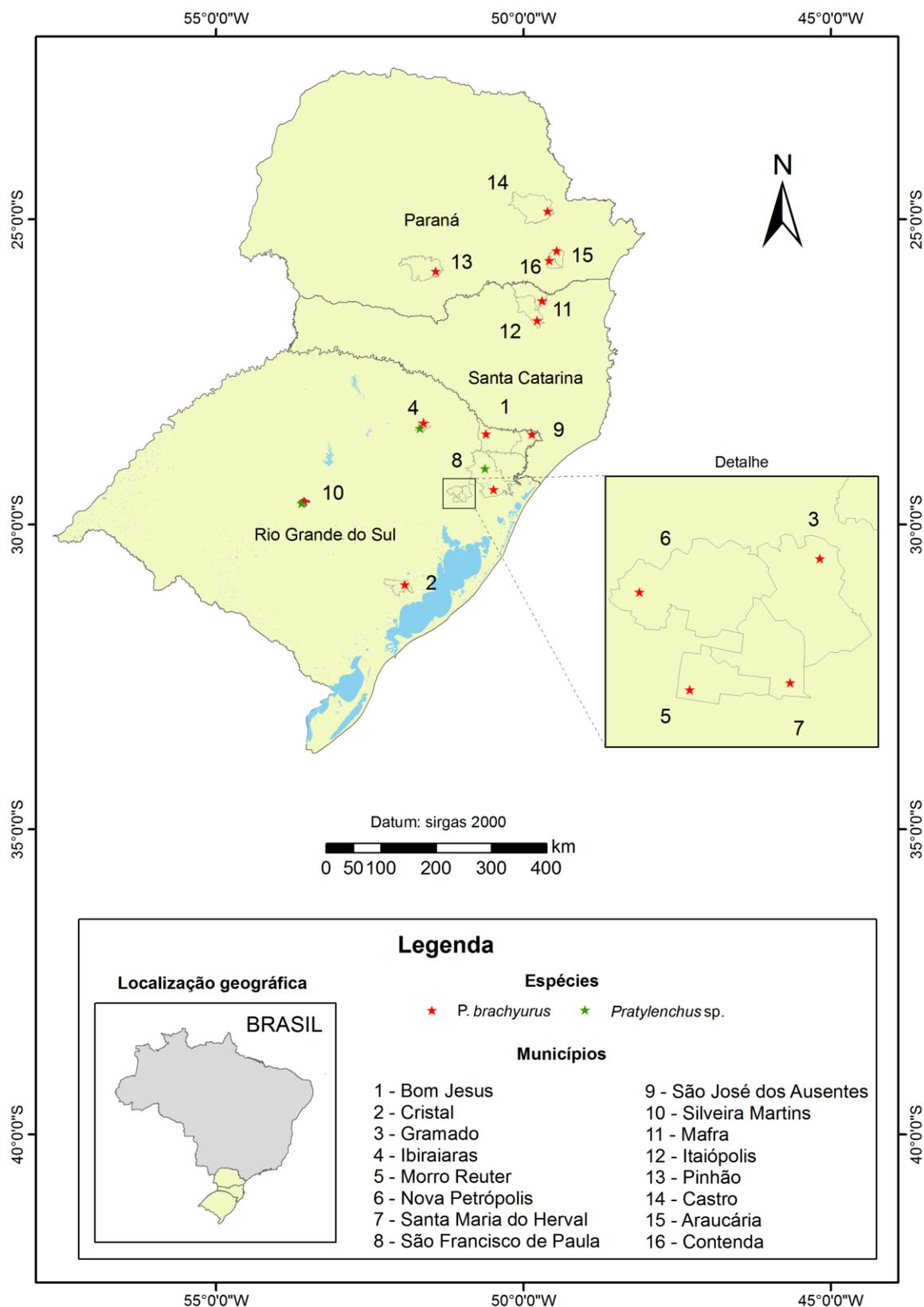


Figura 4 - Localização e distribuição de espécies de *Pratylenchus* por município em áreas de batata dos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Pelotas/RS, 2013.

Foram encontradas fêmeas e formas juvenis de *Pratylenchus* sp. nas amostras analisadas, não sendo verificada a ocorrência de machos. De acordo com a Figura 5, os espécimes do nematoide das lesões observados foram caracterizados morfológicamente como *P. brachyurus* por apresentarem uma região labial angulosa com um anel da base mais estreito que o primeiro anel do corpo, nódulos basais do estilete massivos e arredondados e a posição da vulva mais posterior em comparação à outras espécies de *Pratylenchus* e uma cauda usualmente hemisférica com terminação lisa, confirmando a descrição caracterizada por Loof (1991). e por Gonzaga (2006).

No Brasil e no mundo o gênero *Pratylenchus* é considerado o segundo grupo de nematoides parasitas em culturas de importância econômica, sendo apenas superado pelo nematoide das galhas (GONZAGA, 2006; SASSER; FRECKMAN, 1987; TIHOHOD, 1993; PINHEIRO; LOPES, 2011).

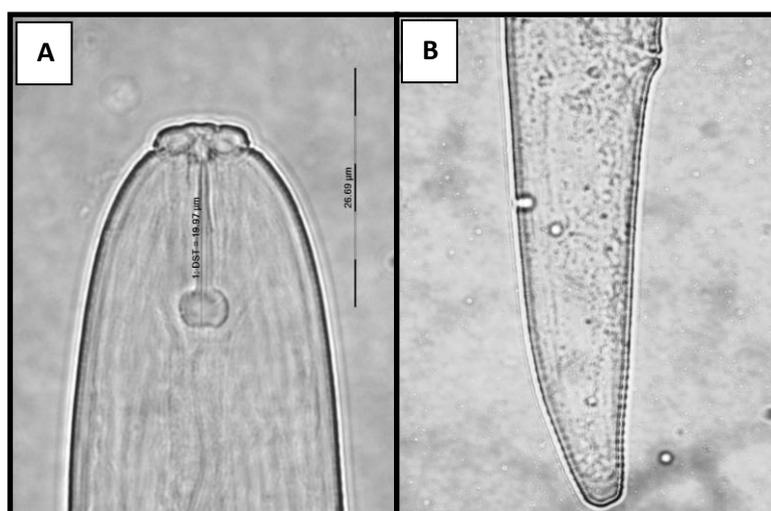


Figura 5 - Fotomicrografia de *Pratylenchus brachyurus* em microscópio óptico. A: parte posterior do corpo (100x), B: parte anterior do corpo (100x). Pelotas/RS, 2013.

Entre as espécies do nematoide das lesões que afetam a cultura da batata, *P. brachyurus*, *P. coffeae* e *P. penetrans* são as principais causadoras de danos (SANTOS, 2003; SILVA; SANTOS 2007; SILVA, 2009; PINHEIRO; LOPES, 2011), sendo a primeira a mais frequente no último levantamento realizado na cultura, no país (SILVA, 2009). Os diferentes estádios de desenvolvimento do nematoide das lesões são capazes de penetrarem nas raízes das plantas de batata, se movimentando continuamente nos tecidos intra e intercelular, e assim, causarem lesões necróticas, que por sua vez, são

portas de entrada à invasão por organismos secundários (BRINKMAN; MULDER, 1996; GOMES; SOUZA, 2003). Entretanto, quando o nematoide penetra a superfície dos tubérculos, provoca a formação de lesões de aspecto rugoso, que também é invadida por organismos secundários do solo, resultando em necroses nos tubérculos, os quais em condição de armazenamento, podem apodrecer em menor tempo que tubérculos sadios (MAI et al., 1980; SILVA; SANTOS, 2007), causando consideráveis prejuízos.

2.3.3 Caracterização molecular de populações de *Meloidogyne* spp.

Utilizando-se 30 primers (Tabela 2), o número de fragmentos reprodutíveis por cada isolado de *Meloidogyne* spp. (Tabela 5 e Figura 6) variou de 3 a 19, sendo o tamanho do fragmento de 200 a 1300 bp, aproximadamente. Na Figura 6, podem ser observados os perfis das 20 populações de *Meloidogyne* spp., em gel de agarose com os fragmentos amplificados com o primer C2. Os fragmentos amplificados foram 317, sendo 273, informativos; onde alguns foram amplificados em todos os isolados testados (fragmentos monomórficos), como por exemplo, os fragmentos 630 e 855bp. (Figura 6).

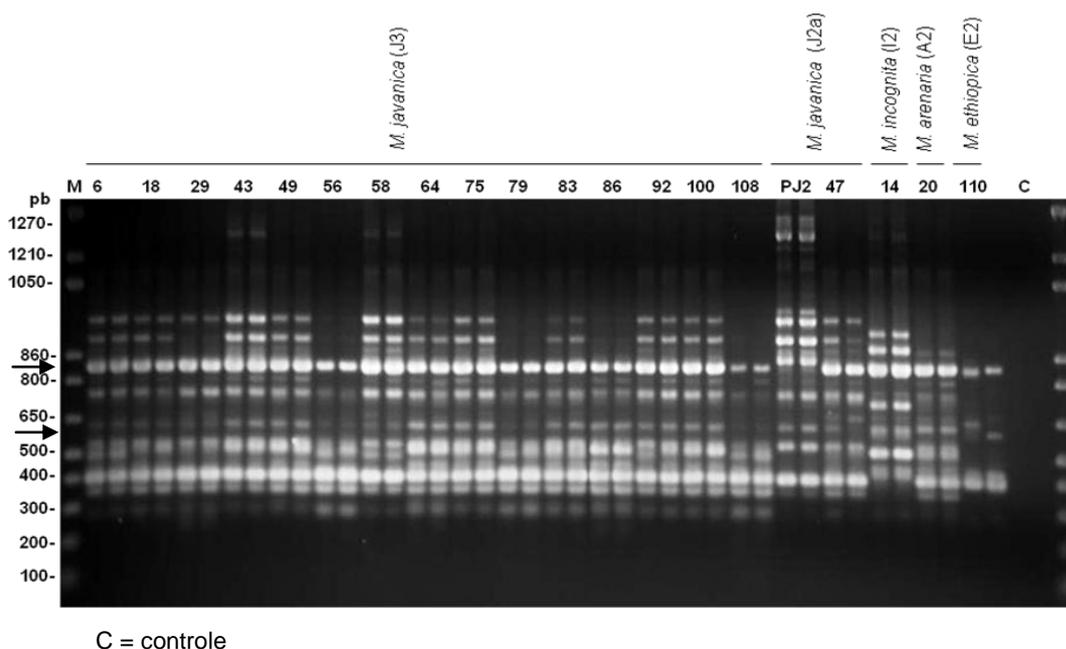


Figura 6 - Análise RAPD de 20 populações de *Meloidogyne* spp. com o primer C2. As setas indicam os fragmentos monomórficos 630 e 855bp. Pelotas/RS, 2013.

O número mínimo de trezentos e dezessete fragmentos e Máximo de 435 foram amplificadas para as quatro espécies/populações de *Meloidogyne* testadas (*M. javanica*, *M. arenaria*, *M. incognita* e *M. ethiopica*), cuja porcentagem de bandas polimórficas amplificadas variou de 13,9 a 27,1% respectivamente, ou seja, um baixo polimorfismo (Tabela 5).

Tabela 5 - Taxa de polimorfismo RAPD observado ao nível de espécie em diferentes espécies e fenótipos de populações de *Meloidogyne*. Pelotas/RS, 2013.

Espécie de <i>Meloidogyne</i>	Fragmentos de RAPD	
	Amplificados (N°)	Polimorfismo (%)
<i>M. javanica</i> (J3)	317	44 (13,9%)
<i>M. javanica</i> (J3) + <i>M. javanica</i> (J2a)	344	27 (7,85%)
<i>M. javanica</i> (J3) + <i>M. incognita</i> (I2)	426	109 (25,6%)
<i>M. javanica</i> (J3) + <i>M. arenaria</i> (A2)	399	82 (20,6%)
<i>M. javanica</i> (J3) + <i>M. ethiopica</i> (E3)	435	118 (27,1%)
<i>M. javanica</i> (J2a) + <i>M. javanica</i> (J2a)	285	27 (9,47%)

Com base na análise filogenética, verificou-se que dentre as 17 populações de *M. javanica*, três grupos se formaram (Figura 6) cujo primeiro grupo foi formado por 15 populações de *M. javanica* Est J3 o qual apresentou um bootstrap de 86% entre as mesmas e uma baixa porcentagem de polimorfismo (Tabela 5). As espécies *M. incognita* (Est I2), *M. ethiopica* (Est E3) e *M. arenaria* (Est A2) se agruparam separadamente com um bootstrap pouco expressivo. O terceiro grupo foi formado pelas duas populações de *M. javanica* Est J2a (Tabela 1) que se separaram das demais com 81% de bootstrap e demonstraram também, um baixo grau de polimorfismo (9,47%) (Figura 7, Tabela 5). Embora essas duas populações J2a tenham procedências bem diversas quanto à localidade geográfica (BA e RS) e hospedeiros (banana e batata), elas são muito próximas geneticamente. Em outros estudos, diferentes fenótipos de Est/Mdh de *M. incognita* (I1/N1 e I2/N1) se agruparam filogeneticamente em clusters separados de acordo com os fenótipos das enzimas (RANDIG et al., 2002).

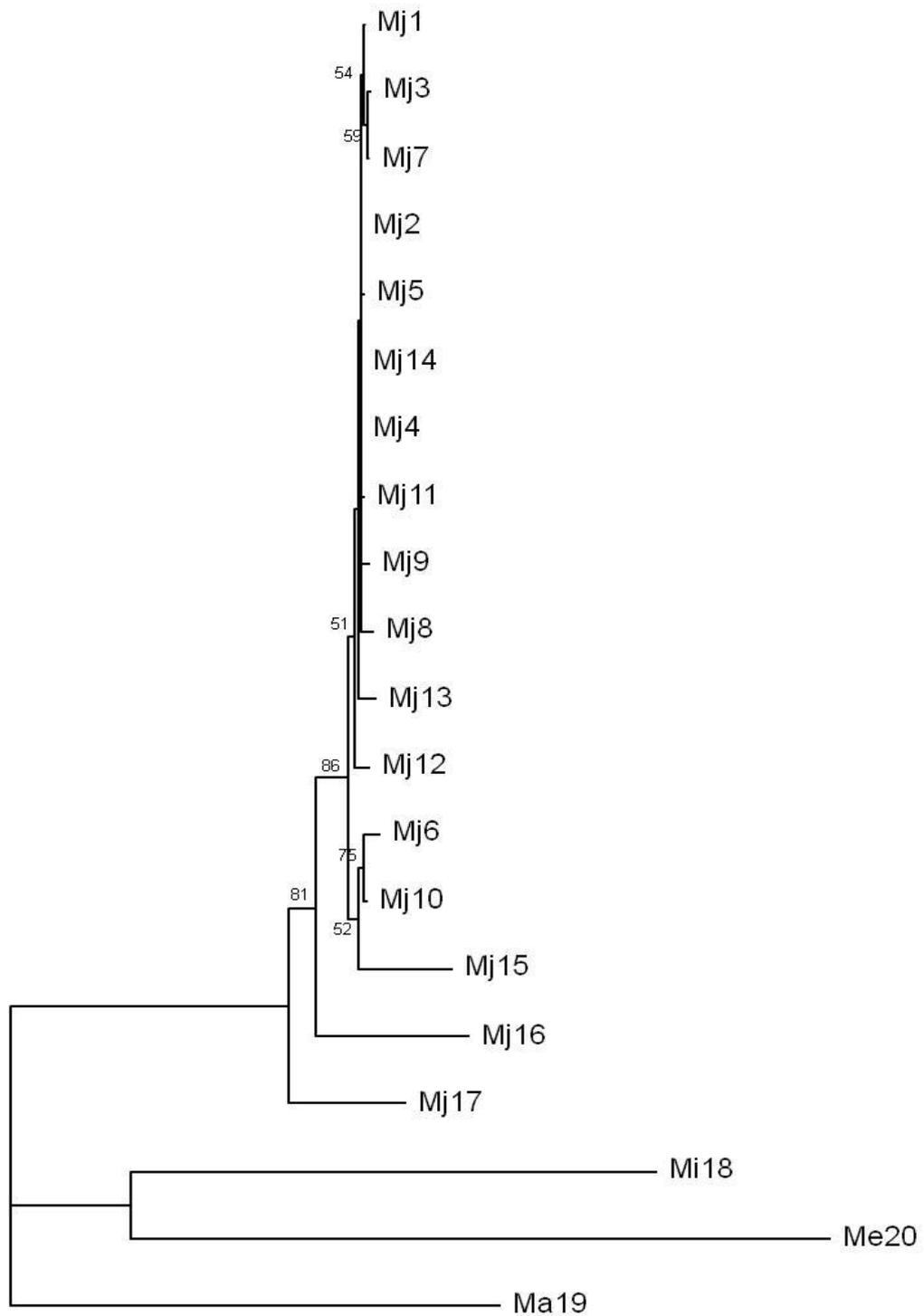


Figura 7 - Árvore filogenética de dados obtidos com marcadores RAPD de *Meloidogyne* spp. Códigos em negrito indicam as espécies e populações discriminadas na Tabela 1. Números próximos aos nós indicam as probabilidades de similaridade. Nós sem valores indicam similaridade abaixo de 50%. Pelotas/RS, 2013.

Em trabalhos sobre a diversidade de populações de *M. javanica* provenientes de diferentes culturas e regiões do Brasil, diversos autores têm encontrado pequenas variações intraespecíficas entre os isolados com base em caracteres moleculares, morfológicos, citogenéticos e bioquímicos (fenótipos isoenzimáticos) (CARNEIRO; ALMEIDA; CARNEIRO, 1996; CASTRO; LIMA; CARNEIRO, 2003; COFCEWICZ et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2007; GOMES et al., 2009a; SOMAVILLA, 2011). Recentemente, Silva (2009) observou variação no padrão de esterase de populações de *M. javanica* provenientes de amostras da batata coletadas no Rio Grande do Sul, no entanto, o autor não avaliou o comportamento desses isolados quanto à agressividade.

Em estudo realizado por Carneiro, Castagnone-Sereno e Dickson (1998), foram comparadas quatro populações de *M. javanica* provenientes do Brasil, sendo duas altamente agressivas em condições de campo à cultura da soja. Os autores constataram significativa variabilidade intraespecífica, observada em caracteres morfológicos (vista de face dos machos e estiletos das fêmeas) e moleculares (marcadores RAPD), sobretudo para as duas populações da soja, o que confirmaram, em parte, o que foi observado no presente estudo. Porém, mais estudos morfológicos e fisiológicos, são necessários para complementação deste estudo. Outro aspecto, é que o marcador RAPD/SCAR é uma ferramenta confiável e que pode ser utilizada na identificação de algumas espécies de *Meloidogyne* (ZIJLSTRA, 2000) como é o caso de *M. javanica*. O emprego desses marcadores também poderia ter sido utilizado na confirmação específica dos diferentes isolados deste estudo, o que validaria a utilização desse marcador para a cultura da batata.

Entre as populações de *M. javanica* (Est J3 e J2a) foi possível observar variabilidade intraespecífica baixa (7,84%), demonstrando assim que esses marcadores podem ser utilizados para diferenciar populações da mesma espécie de *Meloidogyne* (BLOCK et al., 1997; RANDING et al., 2002; CARNEIRO et al., 2004; COFCEWICZ et al., 2004).

Em estudos realizados por Cofcewicz et al. (2004, 2005), foi verificado que o uso de RAPD permitiu avaliar a variabilidade tanto entre diferentes espécies e dentro das mesmas espécies de *Meloidogyne*. Em relação a

variabilidade intraespecífica, o recomendável é ter várias populações de *Meloidogyne* de diferentes procedências para poder distinguir se existe variabilidade ou não. Em trabalho realizado por Block et al. (1997), os autores observaram que quando usadas várias populações de *Meloidogyne* (marcadores RAPD), as mesmas se comportaram diferentemente, além do que, espécies como *M. arenaria* apresentaram maior polimorfismo quando comparadas com as populações de *M. javanica* (este estudo) e *M. incognita* (SANTOS et al., 2012), as quais apresentaram um baixo polimorfismo. *M. arenaria* pode ser considerada uma espécie “enxame”, ou seja, abrigar populações com diferentes origens monofiléticas, ou mesmo, diferentes espécies, como é o caso de *M. morocciensis* (CARNEIRO et al., 2008).

2.4 Conclusões

Diferentes espécies de *Meloidogyne* atacam a cultura da batata no Sul do Brasil, sendo *Meloidogyne javanica*, a espécie mais frequente nas regiões produtoras dos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e do Paraná;

Pratylenchus brachyurus é a espécie do nematoide das lesões mais frequente em lavouras de batata do sul do Brasil;

Existe baixa variabilidade intraespecífica entre populações de *M. javanica*, na cultura da batata, utilizando-se os marcadores RAPD.

3 CAPÍTULO II – Agressividade de populações de *Meloidogyne javanica* em cultivares de batata.

3.1 Introdução

Entre os problemas que afetam a bataticultura, aqueles de origem fitossanitária, afetam consideravelmente a cultura em diferentes regiões do globo (NAZARENO; FILHO, 2009; JIMENEZ-PEREZ; CROZZOLI; GRECO, 2007). Dentre esses, os fitonematoides são considerados um dos principais fatores limitantes devido à suscetibilidade da cultura à *Meloidogyne* spp., aos prejuízos de correntes da infestação dos tubérculos e à ampla distribuição geográfica desse grupo de nematoides (VOVLAS, et al., 2005; MONTERO, et al., 2007).

No Brasil, diferentes espécies do gênero *Meloidogyne* encontram-se amplamente distribuídas em diversas regiões produtoras de batata (*Solanum tuberosum* L.) (CHARCHAR, 1997), sendo *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood 1949 e *M. incognita* (Kofoid & White) aquelas relacionadas a danos na cultura (CHARCHAR, 1990; 2001). Em levantamento recente, *M. javanica* foi relatada como a mais frequentemente encontrada em diversas regiões brasileiras de produção do Sul, Sudeste, nos Estados de Goiás e no Distrito Federal (SILVA, 2009), sendo também considerada, a espécie mais comum e distribuída na maioria das regiões do globo (TAYLOR; SASSER, 1983, VOVLAS, et al., 2005).

Segundo Gomes e Souza (2003), plantas de batata afetadas pelo nematoide das galhas, apresentam menor desenvolvimento, amarelecimento foliar, galhas nas raízes e empipocamento nos tubérculos, cujos danos são

frequentemente relatados na literatura. Além disso, plantas debilitadas em função do parasitismo do nematoide, podem se tornar mais vulneráveis a outros patógenos como *Ralstonia solanacearum*, *Verticillium albo-atrum* e *Rhizoctonia solani*, acarretando danos mais intensos (STEVENSON, et al., 2001; SILVA; SANTOS, 2007; NAZARENO; FILHO, 2009; PINHEIRO; LOPES, 2011).

Entre as práticas de controle utilizadas no manejo do nematoide das galhas das diferentes culturas agrícolas, o uso da resistência genética é considerado uma das táticas mais desejadas por ser economicamente viável e acessível aos produtores, além de não representar riscos à saúde humana e ao meio ambiente. No entanto, embora seja uma prática desejável na cultura da batata, existem poucos materiais genéticos resistentes a *Meloidogyne* spp. disponíveis no mercado brasileiro (GOMES, 2010). Entre os trabalhos disponíveis na literatura e relacionados a resistência genética da batata à *M. incognita* e *M. arenaria*, quase que a totalidade, evidencia a suscetibilidade da cultura. Nessas avaliações, percebe-se que alguns genótipos apresentam diferentes graus de suscetibilidade a *Meloidogyne* spp. (CHARCHAR et al., 2007; MALUF, 1997; SILVA et al., 2010), porém, investigações quanto a agressividade e possível variabilidade genética de populações da mesma espécie, não tem sido focada na interação planta x patógeno, considerando-se a dimensão continental do país. Variações na agressividade têm sido observadas entre populações de *Meloidogyne* da mesma espécie em culturas como soja (TIHOHOD; FERRAZ, 1986), arroz e trigo (POLHAREL et al., (2007), alface (MITKOWSKI; ABAWI, 2003), amendoim (PATEL; PATELB; PATEL, 1993), lentilha (SHARMA; GOMES, 1992) videira (LOUBSER, 1989), dentre outras.

Em trabalhos sobre a diversidade de populações de *M. javanica* provenientes de diferentes culturas e regiões do Brasil, diversos autores tem encontrado variações intraespecíficas entre os isolados com base em caracteres morfológicos, citogenéticos, bioquímicos (fenótipos isoenzimáticos) ou marcadores moleculares (CARNEIRO; ALMEIDA; CARNEIRO, 1996; CARNEIRO; CASTAGNONE-SERENO; DICKSON, 1998; CASTRO; LIMA; CARNEIRO, 2003; COFCEWICZ et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2007; GOMES et al., 2009a; SOMAVILLA, 2011). Recentemente, Silva (2009) observou

variação no padrão de esterase de populações de *M. javanica* provenientes de amostras da batata coletadas no Rio Grande do Sul, no entanto, o autor não avaliou o comportamento desses isolados quanto à reprodução e interferência do nematoide no desenvolvimento de genótipos dessa cultura.

Considerando-se a ocorrência de variações nas populações de *M. javanica* detectadas por Silva (2009), no Rio Grande do Sul, à variabilidade intraespecífica dessa mesma espécie verificada no presente estudo (capítulo 1), e, à falta de informações relacionadas aos potenciais danos causados por essa espécie em batata, teve-se por objetivo nesse trabalho, avaliar a agressividade de quatro populações de *M. javanica* provenientes de diferentes Estados da Região Sul do Brasil em duas cultivares de batata.

3.2 Material e Métodos

Avaliou-se a agressividade de quatro populações de *M. javanica* em duas cultivares comerciais de batata (BRS Clara e Agata) provenientes do Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Clima Temperado e suscetíveis ao nematoide (LIMA-MEDINA et al., 2010), em casa de vegetação.

Todas as populações de *M. javanica* foram obtidas de plantas de batata infectadas a campo. Para realização desse estudo, foram utilizadas duas populações puras coletadas no Rio Grande do Sul: P1 (Amostra 06/Mj1, São Lourenço do Sul) e P4 (Amostra 47/Mj17, Silveira Martins), com os fenótipos Est J3 e J2a, respectivamente; uma do Estado do Paraná denominada P2 (*M. javanica* Est J3; Amostra 108/Mj15, Contenda) e outra do Estado de Santa Catarina, P3 (*M. javanica* Est J3, Amostra 86/Mj12, Itaiópolis). Cada população foi multiplicada em plantas de tomate 'Santa Cruz' mantidas em vaso contendo solo esterilizado, em casa de vegetação a $25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, sendo a pureza de cada uma, verificada periodicamente por eletroforese (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001), conforme descrito no capítulo 1. Para obtenção do inóculo, raízes de tomateiro infectadas de cada uma das populações de *M. javanica*, foram processadas separadamente conforme metodologia de Hussey e Barker (1973) modificada por Bonetti e Ferraz (1981), das quais foram obtidas as suspensões.

O ensaio foi conduzido em esquema fatorial 4 x 2 (4 populações e 2 genótipos) em delineamento completamente casualizado com seis repetições por tratamento, sendo cada unidade experimental representada por uma planta. Plantas individuais de batata dos genótipos Agata e BRS Clara com aproximadamente uma semana e mantidas em vasos com solo esterilizado, foram inoculadas com uma suspensão contendo 5.000 ovos + juvenis de 2º estágio (J2) de *M. javanica*/planta (população inicial) com cada uma das populações do nematoide, separadamente.

Após 55 dias da inoculação, as raízes de cada planta foram separadas da parte aérea, lavadas e avaliadas quanto a massa fresca da parte aérea e da raiz, número de galhas/raiz e massa de tubérculos. Também avaliou-se o número médio de pipocas (galhas)/1,76cm² em três tubérculos/repetição (Figura 1). A seguir, realizou-se a extração de ovos e J2 das raízes de cada planta pela técnica de Hussey e Barker (1973) modificada por Bonetti e Ferraz (1981) para quantificação e posterior determinação do fator de reprodução (FR = população final/população inicial) de cada população de *M. javanica* (OOSTEMBRINK, 1966). A agressividade foi avaliada pela interferência das populações do nematoide na expressão dos sintomas, desenvolvimento da planta, produção e sua reprodução nas diferentes cultivares.



Figura 1 - Avaliação do número de pipocas por unidade de área em tubérculo de batata. Pelotas/RS, 2013.

Para realização da análise estatística dos dados, utilizou-se o programa estatístico SAS® (SAS 9.3, SAS Institute, Cary, North Carolina, USA). Os valores das diferentes variáveis, obtidas nos respectivos tratamentos, foram submetidos a ANOVA, sendo as médias dos tratamento comparadas entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Complementarmente, os valores

das diferentes variáveis foram correlacionados entre si pela análise de correlação de Pearson.

3.3 Resultados e Discussão

De acordo com os resultados apresentados nas tabelas 1 e 2, verificou-se interação significativa entre os fatores cultivar e população para as variáveis número de galhas, fator de reprodução, número de pipocas, altura de planta e massa de tubérculos. No entanto, para as variáveis massa fresca da parte aérea e da raiz, não houve interação entre os tratamentos (Tabela 3).

Quanto ao número de galhas, verificou-se maior número nas raízes das plantas de ambas as cultivares infectadas com as populações de *M. javanica* P2 e P4 (Tabela 1); sendo os maiores danos, observados na cultivar BRS Clara com as mesmas populações. Independentemente da cultivar, não houveram diferenças significativas quanto ao número de galhas nas plantas inoculadas com as populações P3 e P4. (Tabela 1).

Tabela 1 - Número de galhas nas raízes, número de pipocas em tubérculos e fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne javanica* em duas cultivares de batata (Agata e BRS Clara) infectadas com quatro populações de *M. javanica*. Populações P1 (Amostra 6/Mj1), P2 (Amostra 108/Mj15) e P3 (amostra 86/Mj12): *M. javanica* Est J3 e, P4 (Amostra 47/Mj17): *M. javanica* Est J2a, 55 dias após a inoculação. Pelotas/RS, 2013.

<i>M. javanica</i> (Populações)	N° de galhas**			N° de pipocas**			FR		
	Agata	BRS Clara	CV (%)	Agata	BRS Clara	CV (%)	Agata	BRS Clara	CV (%)
P1	390,83 ^{bB}	700,50 ^{bA}	13,27	9,05 ^{Cb}	14,72 ^{cA}	4,68	82,17 ^{bA}	84,50 ^{cA}	25,66
P2	473,50 ^{abB}	952,00 ^{aA}	11,97	17,50 ^{Ab}	20,61 ^{aA}	4,23	122,31 ^{aB}	188,18 ^{aA}	9,8
P3	181,00 ^{cA}	200,30 ^{cA}	21,5	6,61 ^{dA}	6,16 ^{dA}	6,02	8,48 ^{cA}	7,79 ^{dA}	22,14
P4	605,50 ^{aA}	852,70 ^{abA}	15,14	14,44 ^{Ba}	17,00 ^{bA}	2,94	111,43 ^{aA}	120,76 ^{bA}	28,3
CV (%)	16,61	13,43		4,59	4,16		24,03	22,42	

* Médias seguidas por letras iguais e maiúsculas, na mesma linha, e, minúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%; ** Valores originais transformados em $\sqrt{x+1}$; CV = Coeficiente de Variação.

Considerando-se os danos causados pelo nematoide nos tubérculos, verificou-se maior número de pipocas em ambas as cultivares com as

populações de *M. javanica* P2 seguida da P4. À semelhança dos resultados observados para a variável número de galhas, verificou-se na cv. BRS Clara, maior número de protuberâncias (pipocas) na casca em relação a cv. Agata inoculada com as populações P1 e P2, não havendo diferença para essa variável quando ambos os genótipos foram inoculadas com as demais populações (Tabela 1, Figura 2).

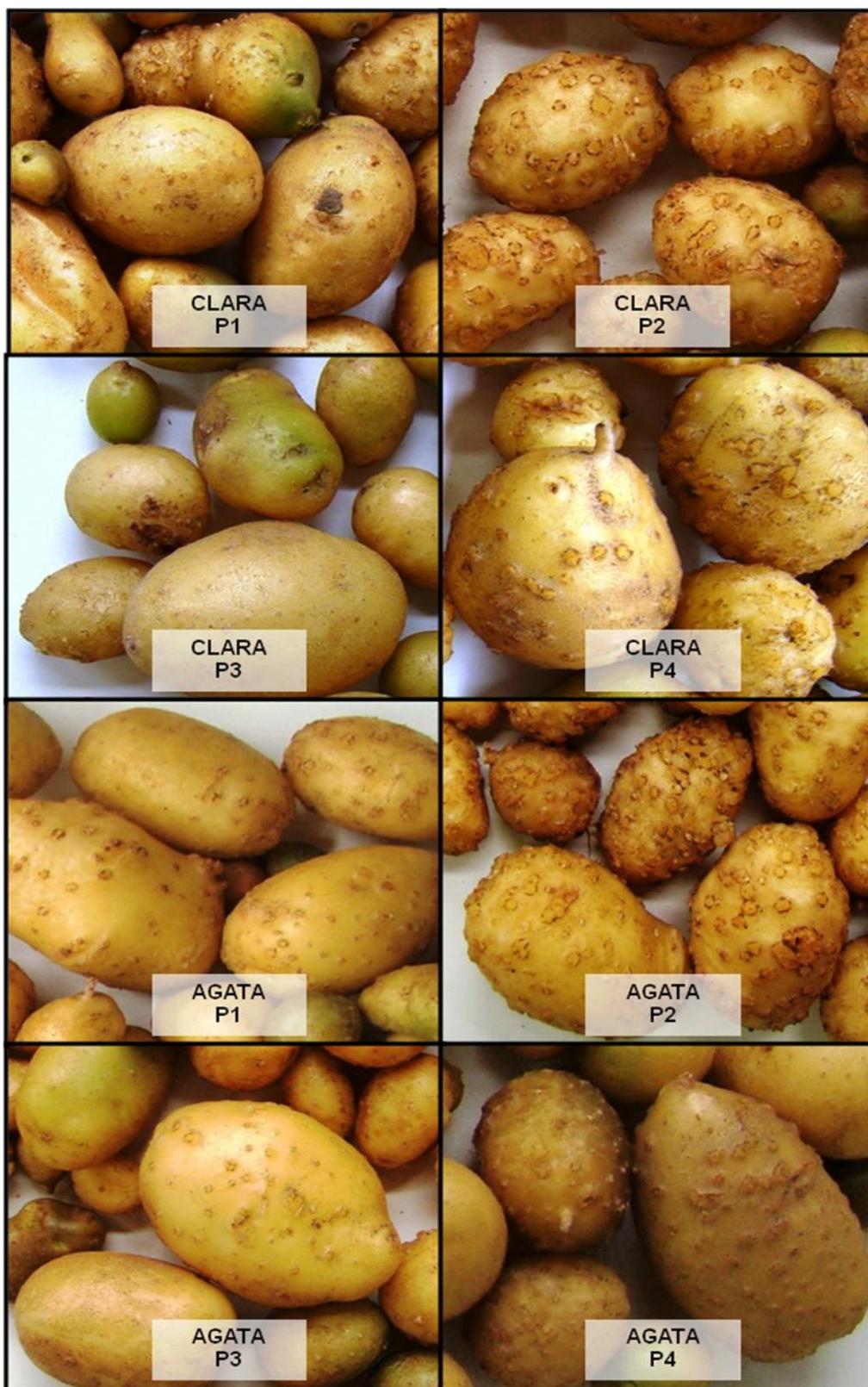


Figura 2 - Sintomas de pipoca em tubérculos de batata nas cvs. BRS Clara e Agata infectados com quatro populações de *M. javanica*. Populações P1, P2 e P3: *M. javanica* Est J3; e P4: *M. javanica* Est J2a. Pelotas/RS, 2013.

Em relação à reprodução do nematoide, os maiores valores de FR foram observados nas plantas de batata de ambas as cultivares infectadas com as populações de *M. javanica* P2 seguidas da P4 (Tabela 1). No entanto, diferença entre cultivares foi detectada apenas na população P2, cujo FR foi maior na cv. BRS Clara. Com base nesse dados, verificou-se que os danos causados nas plantas de batata em função do número de galhas nas raízes, número de pipocas em tubérculos e FR de *M. javanica*, foram mais intensos em plantas infectadas com as populações P2 e P4, independentemente da cultivar, havendo diferenças quanto a intensidade de sintomas em ambos os genótipos para as duas primeiras variáveis, e, em BRS Clara, para a última variável.

Analisando-se a altura das plantas nos diferentes tratamentos, observou-se que a população P4 foi mais agressiva na cv. Agata, não havendo diferença significativa entre as cultivares quando as demais populações foram avaliadas (Tabela 2). Considerando-se a interferência do nematoide sobre esse mesmo parâmetro na cv. BRS Agata, plantas inoculadas com P2, P3 e P4 foram mais afetadas; no entanto, para a cultivar BRS Clara plantas inoculadas com a população P4 apresentaram menor valor de altura (Tabela 2).

Tabela 2 - Altura de plantas e Massa de tubérculos em plantas de batata cvs. Agata e BRS Clara, 55 dias após a inoculação com as populações P1, P2 e P3: (*M. javanica* Est J3); e P4: (Est J2a). Pelotas/RS, 2013.

<i>M. javanica</i> (Populações)	Altura (cm)			Massa de tubérculo (g)		
	Agata	BRS Clara	CV (%)	Agata	BRS Clara	CV (%)
P1	31,33aA*	25,50aA	20,12	98,82bA	104,97aA	14,71
P2	25,00bA	25,67aA	8,02	129,20aA	93,80aB	17,99
P3	24,33bA	24,17aA	12,92	122,99abA	98,70aA	17,51
P4	25,17bA	20,00bB	9,37	104,64bA	97,71aA	18,81
CV (%)	17,14	9,37		16,85	17,94	

* Médias seguidas por letras iguais e maiúsculas, na mesma linha, e, minúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%; CV = Coeficiente de Variação.

Pela análise da massa fresca da parte aérea e da raiz, verificou-se que, independentemente da população de *M. javanica* inoculada, a cv. Agata foi a mais afetada (Tabela 3). Em relação a massa de tubérculos, não houve diferença significativa entre as populações do nematoide inoculadas na cultivar

de batata BRS Clara; porém, em 'Agata', verificou-se menor massa dos tubérculos, quando as plantas foram inoculadas com a população P4 de *M. javanica* Est J2a (Tabela 2).

Tabela 3 - Massa fresca da parte aérea e massa fresca da raiz em plantas de batata inoculadas com quatro populações de *Meloidogyne javanica* em dois genótipos de batata. Pelotas/RS, 2013.

<i>M. javanica</i> (Populações)	MFPA (g)			MFR (g)		
	Agata	BRS Clara	CV (%)	Agata	BRS Clara	CV (%)
P1	68,69aB	98,37aA	22,98	17,84aB	23,51aA	20,30
P2	64,00aB	106,88aA	19,32	16,32aB	31,06aA	30,22
P3	67,32aB	89,71aA	25,88	20,29aB	22,20aA	29,09
P4	68,90aB	81,39aA	23,27	21,80aB	29,68aA	25,11
CV (%)	23,75	21,91		26,82	26,11	

PMFPA - Massa fresca da parte aérea; PMFR- Massa fresca da raiz; *Médias seguidas por letras iguais e maiúsculas, na mesma linha, e, minúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%; CV = Coeficiente de Variação.

De acordo com os dados apresentados na tabela 4, observa-se que houve correlação positiva significativa entre as variáveis associadas aos danos provocados pelo nematoide e sua reprodução nas cultivares de batata testadas; no entanto, não detectou-se correlação entre essas variáveis e aquelas relacionadas ao desenvolvimento das plantas e produção de tubérculos tanto para a cv. Agata quanto BRS Clara.

A correlação significativa (Tabela 4) entre o número de galhas nas raízes com número de pipocas, em ambas cultivares de batata, evidencia a eficiência da metodologia utilizada para avaliação indireta dos danos provocados por *M. javanica* nos tubérculos, os quais foram estimados pela contagem do número de protuberâncias na área estimada (item 3.2 Figuras 1 e 2). Da mesma forma, essas duas variáveis (sintomas) foram correlacionadas positivamente com o FR do nematoide, independentemente da população estudada, resultados esses também observados no estudo da agressividade de populações de *M. javanica* em diversas culturas anuais e perenes (TIHOHOD; FERRAZ; 1986; POKHAREL et al., 2007; MITKOWSKI; ABAWI, 2003, PATEL; PATELB; PATEL, 1993; SHARMA; GOMES, 1992; LOUBSER, 1989; SOMAVILLA, 2008). Tais observações podem explicar a maior agressividade das populações

P2 e P4 de *M. javanica*, levando-se em consideração os sintomas de galhas nas raízes e pipocas nos tubérculos diretamente proporcionais a taxa de reprodução do nematoide na espécie hospedeira (Tabelas 1 e 2). Conforme Santos et al. (1981) citado por Silva (2009), a agressividade em genótipos de batata suscetíveis aliada a condições favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, pode permitir com que um único juvenil de segundo estágio de *M. javanica*/250 cm³ de solo, no plantio, seja suficiente para causar dano à cultura.

Tabela 4 - Coeficiente de correlação entre número de galhas/raíz, número de pipocas/tubérculo, e, fator de reprodução de *M. javanica* com altura de planta, massa de tubérculos e massa fresca da parte aérea e da raíz, em dois genótipos de batata. Pelotas/RS, 2013.

Genótipos	Coeficiente de correlação (R)						
	Nº Galhas	FR	Altura de planta	Massa de tubérculo	PMFPA	PMFR	
BRS Clara	Nº pipocas	0,8888**	0,8941**	-0,0383 ^{ns}	-0,0797 ^{ns}	0,1642 ^{ns}	0,1642 ^{ns}
	Nº galhas	-	0,8738**	0,1283 ^{ns}	0,0696 ^{ns}	0,1128 ^{ns}	0,1128 ^{ns}
	FR		-	0,0166 ^{ns}	-0,0795 ^{ns}	0,2808 ^{ns}	0,2808 ^{ns}
	Altura de planta			-	-0,1390 ^{ns}	0,6929 ^{ns}	0,6929 ^{ns}
	Massa de tubérculo				-	-0,2087 ^{ns}	-0,2087 ^{ns}
	MFPA					-	0,4100 ^{ns}
Agata	Nº pipocas	0,6762**	0,8166**	-0,1197 ^{ns}	0,1803 ^{ns}	-0,0476 ^{ns}	-0,0867 ^{ns}
	Nº galhas	-	0,8108**	0,2377 ^{ns}	-0,2035 ^{ns}	-0,0036 ^{ns}	0,0867 ^{ns}
	FR		-	0,0779 ^{ns}	-0,0843 ^{ns}	-0,0141 ^{ns}	-0,0626 ^{ns}
	Altura de planta			-	-0,3153 ^{ns}	0,1823 ^{ns}	0,0669 ^{ns}
	Massa de tubérculo				-	-0,1003 ^{ns}	0,0367 ^{ns}
	MFPA					-	0,4100 ^{ns}

PMFPA - Massa fresca da parte aérea; PMFR- Massa fresca da raíz; ** P<0,001; ns- não significativo; FR- Fator de Reprodução.

Em estudo realizado por Van der Beek e Pijanacker (1998), os autores não observaram interação significativa entre a virulência de diferentes isolados de *M. chitwoodi* Golden, O'Bannon, Santo & Finley, e *M. fallax* Karssen, e *M. hapla* em diferentes cultivares de batata. Já em estudo conduzido por Canto-Saenz e Brodie (1986), os autores verificaram diferença quanto a agressividade de isolados de *M. incognita* em diferentes clones da cultura. Além disso, os autores

constatarem interação entre agressividade e a produção de tubérculos dos genótipos avaliados. Levando-se em consideração a ocorrência de populações de *Meloidogyne* spp. mais agressivas, a condução de novos estudos, pode complementar o entendimento dessa interação tanto na seleção de materiais resistentes/tolerantes de batata ao nematoide das galhas, como para outras espécies vegetais em esquemas de rotação de culturas.

Embora as populações P2 e P4 de *M. javanica* tenham sido as mais agressivas nas duas cultivares, observou-se apenas uma relação parcial dessa variável com os respectivos fenótipos esterásticos e os agrupamentos pela análise RAPD (Capítulo 1), uma vez que a população P4 (Amostras 47/Mj17) com fenótipo de esterase J2a se agrupou separadamente das populações P1 (Amostra 6/Mj1), P2 (Amostra 108/Mj15) e P3 (Amostra 86/Mj12), com o mesmo fenótipo esterástico Est J3. Não foi possível relacionar os dois isolados mais agressivos (P2 e P4) com origem geográfica, pois a população P2 foi proveniente do PR (Município de Contenda) e a P4 do RS (Município de Silveira Martins). A baixa relação entre estudos de variabilidade genética intraespecífica de populações de *Meloidogyne* spp. e agressividade, tem sido observada por outros autores. Oliveira et al. (2011) verificaram que populações de *M. incognita* Est Mdh I1N1 raça 2 e PCR específico (SCAR), comportaram-se de forma diferenciada quanto a patogenicidade em cultivares de café com diferentes níveis de resistência. Xu (2002) estudando a patogenicidade de três populações de *M. konaensis* Eisenback EstMdh. MKF1, MKI1 e MKI1-F1 também observou comportamento diferenciado na cultura do café, tomate e pepino. Em outro trabalho, Pokharel et al. (2007), avaliando diferentes populações de *M. graminicola* Golden & Birchfield em duas cultivares de arroz, não observou correlação entre a região ITS das populações do nematoide avaliadas com a agressividade nas duas cultivares. Entretanto, neste estudo a população P4 se diferenciou das demais pelo fenótipo de esterase J2a e pelo agrupamento filogenético obtido com marcadores RAPD (Capítulo 1). Populações de *M. incognita* perfil de enzima (Est/Mdh) S2/N1 foram pouco agressivas a diferentes cultivares de cafeeiro (MUNIZ et al., 2009). Essas populações em análise filogenética ficaram parcialmente separadas das demais populações (I1/N1 e I2/N1) (SANTOS et al., 2012), mostrando haver certa correlação entre a

variabilidade genética, os fenótipos de enzima e a filogenia das populações. O mesmo pode ser mencionado para raça 1 de *M. arenaria* que é filogeneticamente muito distinta da raça 2 e se caracteriza por ser altamente agressiva ao amendoazeiro, o que não ocorreu com as outras populações da raça 2 (CARNEIRO et al., 2008).

Considerando-se os resultados obtidos nesse estudo, verificou-se que as variáveis número de galhas, fator de reprodução e número de pipocas são importantes para determinar os danos ocasionados por diferentes populações de *M. javanica* em genótipos de batata. Desta forma, investigações futuras quanto à agressividade desse patógeno e suas consequências na qualidade dos tubérculos podem contribuir na adoção de estratégias de manejo do nematoide das galhas na cultura da batata.

3.4 Conclusões

Existem populações de *M. javanica* mais agressivas à batata e há interação entre populações dessa mesma espécie e cultivares de *Solanum tuberosum* quanto aos danos no sistema radicular, tubérculos e o fator de reprodução do nematoide;

Existe correlação positiva entre danos causados por diferentes populações de *M. javanica* em raízes e tubérculos de batata e sua reprodução na cultura;

A estimativa do número de pipocas/unidade de área em tubérculos de batata infectados com *M. javanica* é um parâmetro eficiente para avaliação de danos causados pelo nematoide;

Há relação entre o fenótipo de esterase (J2a) da população P4 de *M. javanica*, o agrupamento filogenético diferenciado e a agressividade dessa população em batata.

4 CAPÍTULO III – Estudo da resistência de genótipos de batata (*Solanum* spp.) ao nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) e do nematoide das lesões (*Pratylenchus brachyurus*).

4.1 Introdução

No Brasil, os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) e o das lesões (*Pratylenchus* spp.) são os mais frequentes e relacionados a danos na cultura da batata (CHARCHAR, 1997; SILVA, 2009).

Entre as espécies do nematoide das galhas relacionadas à cultura no Brasil, registra-se a ocorrência de *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) *M. arenaria* (Neal) Chitwood e *M. hapla* (Chitwood), sendo as três primeiras mais adaptadas a temperaturas com amplo espectro de temperatura, e a última a clima mais ameno a frio (CHARCHAR, 2001; PINHEIRO; LOPES, 2011). Em outras regiões de cultivo, no mundo, *M. hapla* e *M. chitwood* (Chitwood) são as principais espécies que ocasionam os maiores prejuízos na produção de batata (GOMES; SOUZA, 2003; LAX; DOUCET, 2011). Porém, para o Brasil, *M. chitwood* é considerado uma praga quarentenária (SILVA, 2009).

O ciclo de vida do nematoide das galhas envolve quatro estádios de desenvolvimento. Ao eclodirem dos ovos, os juvenis de segundo estágio (J2) se movimentam no solo e migram até as raízes da planta hospedeira e penetram na região de alongamento por meio de seu estilete, locomovem-se intercelularmente até o cilindro central, e estabelecem um sítio de alimentação, tornam-se sedentários e iniciam o processo de parasitismo. Ao injetarem secreções nas células da raiz, as células ao redor da região anterior de seu corpo, tornam-se gigantes e multinucleadas (hipertrofia), ocorrendo

concomitantemente a divisão sucessiva das células corticais as quais originam engrossamentos nas raízes, vulgarmente conhecidos como galhas (hiperplasia). Aproximadamente três semanas após a infecção, após passarem por mais duas ecdises (estádios J3 e J4), as fêmeas adultas e globosas, iniciam a postura colocando de 200 a 1000 ovos em uma matriz gelatinosa, fora da raiz, completando seu ciclo. Da mesma forma, os machos, vermiformes, passam por duas ecdises, porém ao tingirem o estágio adulto, podem fecundar a fêmea antes de abandonarem a raiz (GOMES; SOUZA, 2003).

A duração do ciclo de vida do nematoide das galhas depende da espécie, das condições ambientais do local, do período de cultivo e da cultivar. De acordo com observações feitas por Charchar e Paccini Neto (1990), no cultivo das secas (maio-setembro), com temperatura entre 17 e 23°C, *M. javanica* e *M. incognita* não completaram o ciclo em plantas de batata até 63 dias após o plantio. Porém, na época das chuvas, de janeiro a abril (23°C a 18°C), *M. incognita* completou o ciclo em 27 dias. Em outro trabalho realizado em condições de campo, no Brasil, Charchar e Moita (1997) verificaram que o desenvolvimento *M. incognita* além de estar associado as condições climáticas, também estava associado a cultivar de batata, cujo ciclo do nematoide se completou em 57 dias na cv. Baronesa e em 64 dias, na cv. Achat. No entanto, estudos mais precisos quanto ao ciclo do nematoide das galhas associados à resistência genética, ainda são incipientes em nossas condições.

Nos últimos dez anos, o aumento das áreas de cultivo com batata tem evidenciado a exposição da cultura a outras espécies de *Meloidogyne* de importância econômica. Dentre essas, *M. enterolobii* = *M. mayaguensis* (Rammah & Hirschmann) vem causando preocupação, por ser uma espécie extremamente agressiva em culturas perenes como a goiaba (*Psidium guajaba* L.) e culturas anuais como berinjela (*Solanum melongena* L.) (CARNEIRO; et al., 2006; ALMEIDA et al., 2011) e fumo (*Nicotianum tabacum* L.) (GOMES; COUTO; CARNEIRO, 2008).

M. ethiopica (Whitehead) é uma outra espécie considerada importante também para culturas anuais e perenes tanto no Brasil como em outros países (SOMAVILLA, 2011; CARNEIRO et al., 2003). Apesar de *M. ethiopica* ser

relatado na videira e no Kiwi *Actinidia deliciosa* (Chevalier) Liang & Ferguson, no Chile, os prejuízos tem sido associados a *M. ethiopica*, (MAGUNACELAYA, 2005; CARNEIRO et al., 2007). No Brasil, essa espécie foi relacionada a danos severos em pomares de kiwi da serra gaúcha (CARNEIRO et al., 2003), sendo também detectada em soja (*Glycines Max* L.) (CASTRO et al., 2003), yacon (*Polymida sonchifolia* Poep & End), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) (CARNEIRO et al., 2004), em fumo (GOMES et al., 2005), e, mais recentemente, na cultura da batata no Paraná (LIMA-MEDINA et al., 2011). No estado de Santa Catarina, algumas áreas de hortaliças ocasionalmente são conduzidas ao lado de lavouras de arroz cuja cultura é severamente atacada por *M. graminicola* (Golden & Birchfield). No entanto, apesar de *S. tuberosum* ser relatada como hospedeira do nematoide (MACGOWAN; LANGDON, 1989), não há relatos de ocorrência em batata e tão pouco se sabe sobre o nível de resistência dessa cultura a *M. graminicola*, que encontra-se disseminado em lavouras de arroz do Baixo/Médio Vale do Itajaí-SC (NEGRETTI et al., 2011).

O segundo gênero de fitonematoide de maior importância econômica na cultura da batata, no Brasil, é *Pratylenchus*. Esse nematoide-praga apresenta destaque pela sua ampla gama de hospedeiros e distribuição geográfica no País (PINHEIRO; LOPES, 2011). Entre as principais espécies que relatadas em lavouras de batata no Brasil, *P. brachyurus* (Godfrey) Filipjev & S. Stekhoven, é a mais relacionada a danos causados nos tubérculos (SILVA; SANTOS, 2007; MAI, et al., 1980).

Todos os estádios de desenvolvimento de *Pratylenchus* spp. são vermiformes e capazes de penetrar nas raízes em ativo crescimento. Por ser um nematoide endoparasita migrador, ao se alimentarem e movimentarem-se inter ou intracelularmente, no interior da raiz, provocam a morte das células causando lesões necróticas, que por sua vez, constituem-se como porta de entrada de microrganismos associados a murchas ou podridões. *P. penetrans* completa seu ciclo em sete semanas a 18°C. No entanto, em climas mais quentes, *P. brachyurus* e *P. coffeae* apresentam temperatura ótima para reprodução entre 25 e 28°C (GOMES; SOUZA, 2003). A campo, os sintomas normalmente são percebidos em manchas em reboleiras, onde nota-se o atraso no desenvolvimento das plantas afetadas, florescimento tardio, necrose

nas raízes e nas lenticelas da casca dos tubérculos, cujos danos causados pelo nematoide, podem os tornar impróprios para a comercialização (SILVA; SANTOS, 2007; GOMES; SOUZA, 2003; CURI et al., 1990).

Para o manejo adequado de fitonematoides, deve-se considerar a cultivar de batata, a época de plantio e o nível de infestação do solo em que será feito o plantio (CHARCHAR, 1995; CHARCHAR; MOITA, 2001). O uso da resistência genética é considerada uma das práticas de controle mais desejadas por ser economicamente viável e acessível aos produtores, e não representa riscos a saúde humana e ao meio ambiente. Entretanto, existem poucos materiais genéticos resistentes a *Meloidogyne* spp. disponíveis no mercado brasileiro (GOMES, 2010). Situação semelhante ocorre em relação ao nematoide das lesões *Pratylenchus* spp., pois mesmo ocorrendo em diferentes regiões produtoras de batata no Brasil (SILVA, 2009), pouco se sabe sobre o nível de resistência das cultivares comercializadas no país.

Apesar de existirem espécies de batata silvestres (*Solanum* spp.) que representam uma grande reserva de diversidade genética para genes de resistência a doenças (VAN DER BEEK et al., 1998), poucos acessos apresentam resistência às espécies de *Meloidogyne* que ocorrem em batata no Brasil, uma vez que esses materiais tem sido usado principalmente para cruzamentos em programas de melhoramento europeus visando resistência a *M. hapla* (SCURRAH, 2008), dentre algumas espécies de importância quarentenária para o Brasil (STARR et al., 2002), e, que, portanto, não ocorrem no país.

Desta forma, teve-se por objetivo nesse estudo, avaliar a reação de cultivares comerciais de batata a *Meloidogyne* spp. e *P. brachyurus*, assim como selecionar fontes de resistência em acessos de batata silvestre a *M. javanica*; e, estudar o ciclo de vida de *M. javanica* em genótipos de batata resistente e suscetível a essa mesma espécie do nematoide das galhas.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Avaliação da reação de cultivares de batata a *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus brachyurus*.

Nove cultivares de batata (Agata, Cristina, Eliza, Asterix, Ana, Catucha, Cota, BRS Clara, e BRSIPR Bel), provenientes do banco de germoplasma da Embrapa, foram avaliadas quanto à reação a *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus brachyurus*, em casa de vegetação a 25°C ± 5°C. Adicionalmente, avaliou-se a resistência da cv. Caesar a *M. javanica*.

Como inóculo do nematoide das galhas, foram utilizadas populações puras de *M. javanica* (Est J3), *M. incognita* (Est I2), *M. arenaria* (Est A2) e *M. ethiopica* (Est E3) provenientes de batata (Capítulo 1), uma população de *M. enterolobii* (Est M2) proveniente de goiabeira (*Psidium guajava* L.) e uma população de *M. graminicola* proveniente de arroz irrigado (*Oryza sativa* L.), sendo as cinco primeiras e a última, mantidas e multiplicadas em plantas de tomate 'Santa Cruz' (*Solanum lycopersicum* L.) e arroz 'BR IRGA 410', respectivamente. As fêmeas de cada população foram periodicamente submetidas à eletroforese com a enzima esterase (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001) para confirmação da axenização de cada uma das populações.

Plantas individuais de batata dos diferentes genótipos, mantidas em vasos com solo esterilizado, foram inoculadas com uma suspensão de 5.000 ovos + juvenis de 2º estágio (J2) (Pop. Inicial) de cada espécie de *Meloidogyne* ou 800 indivíduos de *P. brachyurus*, obtidos conforme método de Hussey e Barker, (1973) modificado por Bonetti e Ferraz (1981), utilizando-se seis repetições/genótipo. Como testemunhas, plantas de arroz, sorgo (*Sorghum vulgare* L.) '5067' e tomateiro cv. 'Santa Cruz', foram inoculadas com o mesmo nível de inóculo de *M. graminicola*, *P. brachyurus* e das demais espécies de *Meloidogyne*, respectivamente.

Decorridos 55 dias da inoculação das plantas de batata com *Meloidogyne* spp., as raízes de cada planta de batata foram separadas da parte aérea e avaliadas quanto ao número de galhas. A seguir realizou-se a extração de ovos + J2 do nematoide das raízes de cada planta (população final) conforme

metodologia de Hussey e Barker (1973) modificada por Bonetti e Ferraz (1981) para quantificação e determinação do fator de reprodução (FR = população final/população inicial) de cada espécie de *Meloidogyne* (OOSTENBRINK, 1966) em cada repetição. No experimento cujas plantas de batata foram inoculadas com *P. brachyurus*, a avaliação se deu aos 65 dias após a inoculação. Primeiramente, as raízes de cada planta foram processadas para extração dos indivíduos conforme metodologia utilizada para *Meloidogyne* spp., e, a seguir, realizada a contagem do número de nematoides/raíz para determinação do fator de reprodução (FR) de *P. brachyurus* utilizando-se a metodologia acima descrita.

Posteriormente, os valores de número de galhas (transformado em $\sqrt{x+1}$), FR de *Meloidogyne* spp. e de *P. brachyurus*, obtidos nos diferentes genótipos, foram submetidos a ANOVA, sendo as médias de cada tratamento comparadas entre si pelo teste de agrupamento Scott-Knott (1974) a 5% de probabilidade, utilizando-se o software SASM-Agri (CANTERI et al., 2001). Adicionalmente, os genótipos de batata foram classificados de acordo com os valores de FR, considerando-se como imunes (I), aqueles genótipos cujo nematoide apresentou FR=0,00; resistentes (R) com FR<1,00; moderadamente resistentes (MR), 1,01>FR<1,07; moderadamente suscetíveis (MS), os que apresentaram 1,07>FR<3,19; suscetíveis (S), aqueles com 3,19>FR<24,53; e, altamente suscetíveis (AS), FR>24,53.

4.2.2 Seleção de acessos de batata silvestre resistentes a *M. javanica*.

Vinte e quatro acessos de batatas silvestres (*Solanum* spp.) provenientes do banco de germoplasma da Embrapa (Tabela 1), foram avaliadas quanto à reação a *M. javanica*. em casa de vegetação a 25°C ± 5°C.

Plantas de batata dos diferentes acessos, mantidas em vasos com solo esterilizado, foram inoculadas com 5.000 ovos + juvenis de 2º estágio (J2) de uma população pura de *M. javanica* (Pop. Inicial) conforme metodologia descrita no item 3.2.1, utilizando-se seis repetições/genótipo. Como testemunha, plantas da cultivar Ana (suscetível), foram inoculadas com o mesmo nível de inóculo.

Cinquenta e cinco dias após a inoculação, o sistema radicular de cada planta foi separado da parte aérea e avaliadas quanto ao número de galhas. A seguir, procedeu-se à extração de ovos + J2 do nematoide das raízes conforme metodologia descrita anteriormente (item 3.2.1) para quantificação e determinação do FR do nematoide (OOSTENBRINK, 1966) em cada repetição.

Tabela 1 – Genótipos de batata cultivada e acessos de batata silvestre do banco de germoplasma da Embrapa, com seus respectivos progenitores e origem. Pelotas/RS, 2013.

Genótipos	Progenitores	Origem
61-8	<i>Solanum chacoense</i> spp. Chacoense	Argentina
46-10	<i>Solanum chacoense</i> spp. Chacoense	Argentina
SCH-68	<i>Solanum chacoense</i> spp. Chacoense	Argentina
511	Cristal x NYL - 23-4	Brasil
56-8	<i>Solanum chacoense</i> spp. Chacoense	Argentina
45-4	<i>Solanum chacoense</i> spp. Chacoense	Brasil
664	<i>Solanum verthaultii</i> (N-263-32) x Eliza	Brasil
676	Eliza x N-140 (<i>Solanum verthaultii</i>)	Brasil
546	White lady x N-140 (<i>Solanum verthaultii</i>)	Brasil
NYL-235	cv. Prince Hairy (<i>Solanum verthaultii</i> x Hudson)	EUA
543	Eliza x NYL-235-4	Brasil
<i>S. calvescens</i>	-	Peru
545	Cristal x NYL - 235-4	Brasil
68-8	<i>Solanum chacoense</i> spp. Chacoense	Argentina
525	N-263-32 x 2CRI-1149-1-82	Brasil
513	C1226-35-80 x NYL-235-4	Brasil
499	N-263-32 x 2CRI-1149-1-78	Brasil
63-2	<i>Solanum chacoense</i> spp. Chacoense	Argentina
55-5	<i>Solanum chacoense</i> spp. Chacoense	Argentina
55-7	<i>Solanum chacoense</i> spp. Chacoense	Argentina
44-7	<i>Solanum chacoense</i> spp. Chacoense	Argentina
51-9	<i>Solanum chacoense</i> spp. Chacoense	-
675	<i>S. verthaultii</i> P16103 (K88-64 X 514-1) x Mirka	Brasil
68-16	<i>Solanum chacoense</i> spp. Chacoense	Brasil

A análise dos dados conforme o item 3.2.1 foi realizada conforme aquela descrita no ítem anterior, onde os valores de número de galhas (transformado em $\sqrt{x+1}$) e FR de *M. javanica*, obtidos nos diferentes genótipos, foram

submetidos a ANOVA, e as médias de cada tratamento comparadas entre si pelo teste de agrupamento Scott-Knott (1974) a 5%, utilizando-se o software SASM-Agri (CANTERI et al., 2001). Similarmente aos ensaios anteriores (*Meloidogyne* spp. e *P. penetrans*), a reação dos genótipos de batata avaliados, foi classificada conforme os valores de FR, considerando-se como imunes (I), aqueles genótipos cujo nematoide apresentou FR=0,00; resistentes (R) com FR<1,00; moderadamente suscetíveis (MS), os que apresentaram $1,12 > FR < 4,33$; suscetíveis (S), aqueles com $4,33 > FR < 22,87$; e, altamente suscetíveis (AS), FR>22,87.

4.2.3 Penetração, desenvolvimento e reprodução de *M. javanica* em genótipos de batata suscetível e resistente.

De acordo com os resultados obtidos nos experimentos da avaliação da resistência de cultivares e acessos silvestres de batata à *M. javanica* (ítems 3.2.1 e 3.2.2), selecionou-se para o presente estudo, o acesso resistente 68-16 (*Solanum chacoense* spp. Chacoense) e a cultivar suscetível Ana (Tabelas 2 e 5).

Como inóculo do nematoide, raízes de plantas de tomate infectadas com uma população pura de *M. javanica* (Est J3), foram trituradas em liquidificador (HUSSEY; BARKER, 1973) sendo a suspensão de ovos obtida, submetida a incubação em funil de Baermann modificado (CHRISTIE; PERRY, 1951) a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. No entanto, os J2 de *M. javanica* obtidos nas primeiras 24h foram descartados, e utilizaram-se apenas, aqueles coletados com 48h de incubação por apresentarem-se mais ágeis.

Primeiramente, minitubérculos de ambos os genótipos de batata foram plantadas em vasos plásticos de 300 mL contendo areia esterilizada, sendo estes mantidos em fitotron com temperatura constante de $24 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 14h de luz. Aproximadamente uma semana após o plantio, cada planta foi inoculada com 2.000 juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica*.

As avaliações foram realizadas aos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 dias após a inoculação (DAI), utilizando-se quatro plantas ao acaso de cada genótipo de batata em cada período avaliado. Após os 40 DAI, de 5 em 5 dias, avaliou-se a presença de massas de ovos nas raízes de ambos os genótipos

de batata até os 65 DAÍ. Na avaliação, as raízes de cada planta resistente e suscetível, foram separadas da parte aérea, lavadas e coradas com fucsina ácida, para a observação da penetração dos J2, e desenvolvimento de *M. javanica* segundo a metodologia descrita por Byrd, Kirkpatrick e Barker (1983).

Para tanto, em cada período de avaliação, as plantas de batata foram retiradas cuidadosamente dos vasos; e, a seguir, as raízes foram lavadas em água corrente e mergulhadas em 200 mL de solução aquosa de NaClO a 5,25% por 4 min. Posteriormente, as mesmas raízes foram lavadas em água corrente por 45 seg. e mantidas em um béquer com água por 15 min. para eliminar o excesso de NaClO. Em seguida, as raízes foram seccionadas em fragmentos de 2 a 3 cm e transferidas para um béquer com 2 mL de uma solução de fucsina ácida (1,25g de fucsina ácida, diluída em 125 mL de ácido acético glacial e 375 mL de água destilada) diluída em 40 mL de água. A seguir, a solução com as raízes foi aquecida em microondas por 60 segundos de acordo com a metodologia adaptada por Gomes (2006). Posteriormente, os fragmentos das raízes de cada planta foram descorados com água morna e transferidos para uma placa de Petri com glicerol puro. As raízes foram colocadas em uma lâmina com uma gota de glicerol puro e levadas ao microscópio de luz para serem examinadas, quantificadas quanto ao estágio de desenvolvimento de *M. javanica* (J2, J3/J4, fêmeas e machos) e fotodocumentadas. Avaliações adicionais quanto a presença de massas de ovos nas raízes das plantas resistente e suscetível, foram conduzidas até o 65^o dia após a inoculação, determinando-se também, o FR do nematoide.

Posteriormente, os valores do número de J2 do nematoide que penetraram nas raízes, assim como aqueles relacionados aos demais estádios de desenvolvimento, foram organizados em uma tabela contendo os diferentes períodos de avaliação após a inoculação e as fases de desenvolvimento do nematoide nas cultivares suscetível e resistente. Adicionalmente, os mesmos valores, obtidos aos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 dias após a inoculação, foram submetidos a análises de regressão polinomial utilizando-se o programa estatístico SAS® (SAS 9.3, SAS Institute, Cary, North Carolina, USA).

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Avaliação da reação de cultivares de batata a *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus brachyurus*.

De acordo com os resultados apresentados nas tabelas 2 e 3, verificou-se comportamento diferenciado dos genótipos de batata avaliados quanto à reação às diferentes espécies de *Meloidogyne*, sendo a maioria dos materiais testados, suscetível a mais de quatro espécies do nematoide das galhas. Convém ressaltar que a cv. Cota foi suscetível a todas as espécies de *Meloidogyne* avaliadas; assim como também, as cultivares BRS Ana e BRS Clara, que, apesar de comportarem-se como moderadamente suscetíveis a *M. graminicola*, foram suscetíveis ou altamente suscetíveis às demais espécies.

De uma forma geral, os maiores valores de número de galhas corresponderam às taxas de reprodução mais elevadas das diferentes espécies de *Meloidogyne* nos respectivos genótipos avaliados. Porém maior nível de danos nas raízes, em função do número de galhas, foi observado naquelas cultivares inoculadas com *M. incognita* e *M. arenaria*, cujos valores variaram entre 76,66 e 419,16 (Tabelas 2 e 3). No entanto, os menores números de galhas foram observados nas cultivares Asterix, BRSIPR Bel, Eliza, Cristina e Agata infectadas com *M. graminicola*, cujos valores variaram de 0 a 8,33 galhas/sistema radicular. Embora o número de pipocas/tubérculo não tenha sido avaliado nesse estudo, a expressão desse sintoma foi melhor observada quando *M. incognita* foi inoculado, independentemente da cultivar de batata, conforme pode ser observado na Figura 1.

Em relação a resistência das cultivares testadas, as mesmas foram suscetíveis ou altamente suscetíveis a *M. incognita* e *M. arenaria*. Já para *M. javanica*, *M. ethiopica* e *M. enterolobii* os genótipos avaliados foram, em sua grande maioria, moderadamente suscetíveis ou suscetíveis (Tabela 2 e 3). E, apenas para *M. graminicola*, foram observados genótipos resistentes (Asterix e BRIPR Bel) e imunes (Eliza, Cristina e Agata) (Tabela 3).

Dentre os nove genótipos testados quanto à reação a *M. javanica*, as cultivares Asterix, BRSIPR Bel, Agata e Catucha foram moderadamente

suscetíveis, sendo os demais, suscetíveis ao nematoide, confirmando assim a patogenicidade dessa espécie na cultura da batata. Em pesquisas realizadas por Charchar e Moita (1997), os autores verificaram que dos 48 genótipos testados quanto a resistência a *M. javanica*, 'Achat' comportou-se como moderadamente resistente e todos os demais suscetíveis. Apesar de 'Agata' e 'Asterix' terem se comportado como moderadamente suscetíveis a *M. javanica*, em trabalho recente, Silva et al. (2010) verificaram que ambas as cultivares foram suscetíveis, assim como também permitiram uma ampla variação na reprodução do nematoide em função das épocas avaliadas. Embora esses dois genótipos sejam amplamente cultivados no Brasil, o uso de ambas como progenitores em programas de melhoramento visando resistência a *M. javanica*, seria desaconselhável, uma vez que essa espécie encontra-se amplamente disseminada em todas as áreas de produção de batata do país (CHARCHAR; MOITA, 1996; SILVA, 2009).

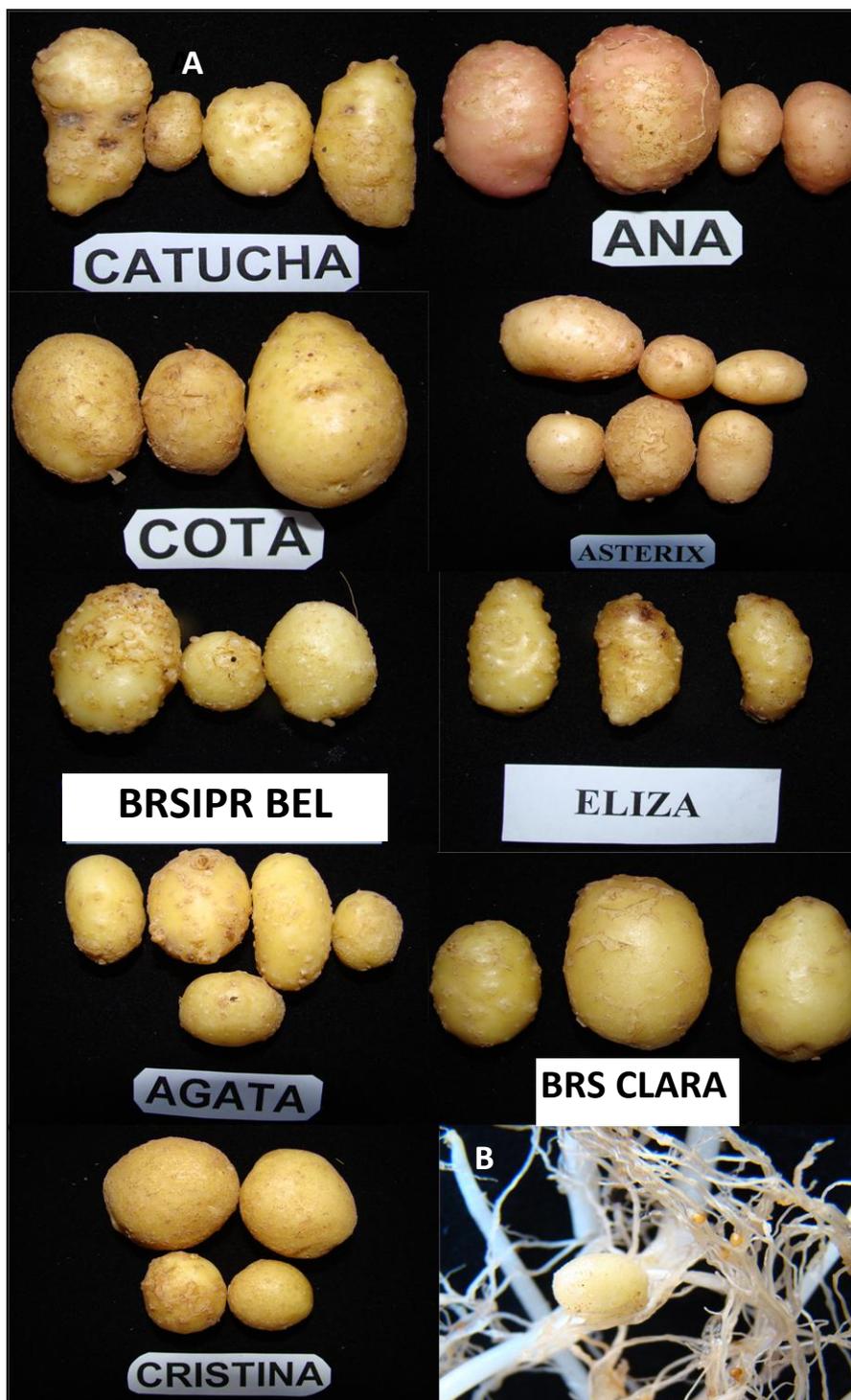


Figura 1. Tubérculos de diferentes genótipos de batata exibindo pipocas causadas por *M. incognita* (A); e raízes com galhas causadas pelo nematoide (B). Pelotas/RS, 2013.

Tabela 2. Reação de genótipos de batata a *Meloidogyne javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria*. Pelotas/RS, 2013.

Genótipos	<i>M. javanica</i>			<i>M. incognita</i>			<i>M. arenaria</i>		
	Número de galhas**	FR	Reação	Número de galhas**	FR	Reação	Número de galhas**	FR	Reação
Tomateiro S. Cruz ¹	769,83*	68,42	AS	569,28	130,13	AS	813,16	90,09	AS
BRS Ana	88,50a	4,60b	S	301,66 ^a	33,23c	AS	268,16a	19,77b	S
BRS Clara	80,83a	3,32c	S	238,50 ^a	42,06b	AS	53,16b	11,22b	S
Asterix	37,00b	2,15d	MS	178,33b	24,54c	S	205,83a	22,08b	S
BRSIPR Bel	27,00c	1,36d	MS	274,00a	40,95b	AS	419,16a	30,49a	AS
Eliza	45,16b	4,96b	S	320,83 ^a	35,79b	AS	243,16a	16,26b	S
Cristina	43,83b	3,19c	S	182,66b	26,53c	S	381,33a	20,15b	S
Agata	23,66c	1,10d	MS	76,66c	9,8c	S	101,83b	24,53a	AS
Cota	67,20a	6,31a	S	156,00b	24,55c	S	207,16a	30,26a	AS
Catucha	21,33c	1,55d	MS	324,16 ^a	61,95a	AS	140,16a	18,92b	S
C.V.	21,54	23,71		17,84	25,8		30,91	34,58	

*Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott & Knot a 5%; FR= Fator de reprodução; ** valores originais transformados em $\sqrt{x+1}$; (I) imune; (R) resistente; (MS) moderadamente suscetível; (S) suscetível; (AS) altamente suscetível; CV= Coeficiente de variação; 1= Testemunha suscetível.

Tabela 3. Reação de genótipos de batata a *Meloidogyne ethiopica*, *M. graminicola* e *M. enterolobii*. Pelotas/RS, 2013.

Genótipos	<i>M. ethiopica</i>			<i>M. graminicola</i>			<i>M. enterolobii</i>		
	Número de galhas**	FR	Reação	Número de galhas**	FR	Reação	Número de galhas**	FR	Reação
Tomateiro S. Cruz ¹	437,00*	27,18	AS	682,33	74,86	AS	572,83	98,32	AS
BRS Ana	23,16c	3,25d	S	47,66b	2,04b	MS	144,66a	10,27b	S
BRS Clara	41,16b	4,99b	S	18,00c	1,91b	MS	43,50b	6,05c	S
Asterix	130,33a	13,29a	S	6,66d	0,53c	R	103,83a	8,37c	S
BRSIPR Bel	55,33b	3,06c	MS	8,33d	0,44c	R	51,00b	1,67d	MS
Eliza	18,66c	1,07d	MR	0,00e	0,00d	I	79,33b	12,39b	S
Cristina	36,66b	4,39b	S	7,16d	0,00d	I	57,16b	1,66d	MS
Agata	27,83c	2,22c	MS	0,00e	0,00d	I	39,50b	6,49c	S
Cota	38,33b	4,81b	S	62,33 ^a	4,15a	S	129,50a	38,25a	AS
Catucha	32,00c	2,42c	MS	25,00c	2,48b	MS	67,50b	7,65c	S
C.V.	20,92	25,82		19,45	34,83		19,95	25,02	
Caesar	30,33 ^a	39,73a	S	-	-	-	-	-	-
Tomateiro Santa Cruz ¹	36,51 ^a	49,00a	AS	-	-	-	-	-	-
C.V.	15,28	25,52		-	-	-	-	-	-

*Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott & Knot a 5%; FR= Fator de reprodução; ** valores originais transformados em $\sqrt{x+1}$; (I) imune; (R) resistente; (MS) moderadamente suscetível; (S) suscetível; (AS) altamente suscetível; CV= Coeficiente de variação; 1 = Testemunha suscetível.

Avaliando-se a reação dos diferentes genótipos de batata a *M. incognita*, verifica-se que essa espécie foi bastante a agressividade em função do elevado número de galhas nas raízes e FR do nematoide, observados nos diferentes materiais avaliados (Tabela 2). A elevada suscetibilidade dos materiais testados a essa espécie pode ser constatada nas cultivares BRS Ana, BRS Clara, BRSIPR Bel, Eliza e Catucha, onde os valores de FR variaram 35,79 a 61,95. Esses resultados estão de acordo com aqueles descritos por outros autores confirmando a patogenicidade *M. incognita* principalmente pelos danos diretos causados nos tubérculos com a formação de protuberâncias “pipocas”, as quais inviabilizam sua comercialização (SCURRAH; NIERE; BRIDGE, 2005; BROWN; MOJTAJEDI, 2004; TAYLOR; SASSER, 1978; JATALA, 1975). Em trabalho realizado em nossas condições, Silva et al. (2010) verificaram valores elevados do FR de *M. incognita* nas cultivares Agata, Asterix e Atlantic em relação aos demais genótipos testados, confirmando a suscetibilidade da cultura; além do mais, as duas primeiras e 'BRS Ana' são suscetíveis a *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary (GOMES et al., 2009b), agente causador da requeima, uma das doenças mais importantes para a cultura da batata no Sul do Brasil (NAZARENO; GOMES, 2010).

Conforme relatado anteriormente, todos os materiais testados comportaram-se como suscetíveis a *M. arenaria*, sendo as cultivares BRS Bel e Cota onde houve maior reprodução do nematoide. Em trabalhos realizados por Di Vito et al. (2003) os quais testaram a reação de diferentes cultivares e acessos silvestre de *Solanum* spp. a *M. arenaria*, os autores verificaram que todos os genótipos foram suscetíveis ao nematoide. Embora *M. arenaria* seja problema em outras espécies vegetais (CARNEIRO et al. 2000a; DE LEÓN et al., 2001, TAYLOR; SASSER, 1983), na cultura da batata ainda não foram registrados danos consideráveis. No entanto, atenção deve ser dada ao local de plantio, identificando-se a(s) espécie(s) do nematoide das galhas uma vez que as cultivares avaliadas nesse estudo apresentam alta suscetibilidade não só a *M. arenaria*, mas, também, a *M. incognita*.

No Brasil, os trabalhos ainda são escassos em relação a resistência de genótipos de batata a *Meloidogyne* spp. Apesar de ter sido detectada tolerância em 'Achat' a *M. incognita* e *M. javanica* (CHARCHAR, 1999), esse material não

está mais disponível no mercado por ter sido substituído por outras cultivares. Outro fato a ser considerado refere-se a ocorrência de populações mistas de *Meloidogyne* spp. De acordo com Charchar (1995), a mistura entre as espécies *M. javanica* e *M. incognita* podem ocasionar danos ainda mais severos quando comparados a ocorrência isolada destes nematoides.

Conforme a tabela 3, verificou-se que a cv. Cristina e BRSIPR Bel foram moderadamente suscetíveis a *M. enterolobii*, e, os demais materiais apresentaram reação suscetível a altamente suscetível. Resultados semelhantes foram obtidos por Silva et al. (2010), que ao testarem a reação de diferentes genótipos de batata, verificaram elevados valores de FR de *M. enterolobii* quando comparados com aqueles de *M. javanica* e *M. incognita* nos genótipos Asterix e Agata. Neste estudo, apesar do nematoide não apresentar valores altos de FR, também se observou reação suscetível tanto nos genótipos Asterix e Agata.

M. enterolobii é relatado como causador de grandes perdas na cultura da goiabeira além de ocorrer em outras espécies vegetais de importância agrícola. Atualmente, *M. enterolobii* encontra-se disseminado nas regiões do Nordeste, Centro-Oeste, Sul e Sudeste brasileiro (CARNEIRO et al., 2006; ASMUS; VICENTINI; CARNEIRO, 2007; LIMA et al., 2007; GOMES; COUTO; CARNEIRO, 2008; SILVA et al., 2008). Além da suscetibilidade das cultivares de batata observada no presente estudo, hortaliças importantes como o tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill) var. "Rossol" e um híbrido de pimentão resistentes a *Meloidogyne* spp. (CARNEIRO et al., 2001; 2004), são suscetíveis a essa espécie. Desta forma, deve-se ter o cuidado de evitar o plantio em áreas infestadas com *M. enterolobii* considerando-se a suscetibilidade da cultura a essa espécie do nematoide das galhas.

Dentre as cultivares de batata avaliadas quanto a resistência a *M. ethiopica*, apenas a cultivar Eliza comportou-se como moderadamente resistente (Tabela 3), sendo os demais genótipos, suscetíveis ou moderadamente suscetíveis a este nematoide. De acordo com Pereira et al. (2001), a cv. 'Eliza' também apresenta resistência a outras doenças como a pinta preta e a resistência moderada a vírus, de uma forma geral, além da requeima (GOMES; STEFFEN; ANTONIOLLI, 2009). Apesar das cultivares Catucha, Agata, e

BRSIPR Bel terem se comportado como moderadamente suscetível a *M. ethiopica*, seria importante a realização de estudos adicionais para determinar o grau de danos relacionado a essa espécie de nematoide. A suscetibilidade da batata a *M. ethiopica*, foi relatada na África, no final da década de 60 (WHITEHEAD, 1969), mas o autor não informou sobre possíveis perdas na cultura. Porém, somente agora essa espécie é novamente reportada em batata, cuja presença foi detectada em plantas das cvs. Caesar e Agata seriamente afetadas pelo nematoide, no Paraná (Capítulo 1). Além disso, a importância desse estudo está diretamente relacionada a ocorrência de infestações que podem ocorrer em outros cultivos com culturas perenes e anuais suscetíveis a essa espécie do nematoide das galhas (SOMAVILLA 2008; MAGUNACELAYA, 2005).

Analisando-se a reação dos genótipos de batata a *M. graminicola*, verifica-se que apesar dessa espécie atacar principalmente gramíneas, algumas cultivares comportaram-se como suscetíveis (Tabela 3). Geralmente, essa espécie do nematoide das galhas é encontrada em áreas orizícolas causando prejuízos e perdas em arroz irrigado (BRIDGE; PLOWRIGHT; PENG, 2005). Considerando-se que no Sul do Brasil, ocasionalmente, algumas áreas de cultivo com hortaliças são conduzidas ao lado de lavouras de arroz severamente atacada por *M. graminicola*, estudos dessa natureza são importantes, uma vez que a cultura é relatada como hospedeira do nematoide (MACGOWAN; LANGDON, 1989), e não há informações sobre o nível de danos e resistência de *S. tuberosum* a *M. graminicola*.

Na avaliação da reação das cultivares da batata a *P. brachyurus*, os genótipos BRS Clara, Cristina, BRSIPR Bel e Eliza foram imunes; BRS Ana, Agata, Cota e Catucha foram resistentes; e, Asterix, comportou-se como moderadamente resistente ao nematoide comparativamente a testemunha suscetível (Tabela 4). Apesar de existirem vários relatos da ocorrência dessa espécie em várias regiões de cultivo de batata do Brasil, sobretudo na região sul (SILVA, 2009), não há informação sobre o nível de resistência das cultivares comercializadas no país. Além disso, deve-se considerar que a presença de *Pratylenchus* sp. no solo associada a outros gêneros de fitonematoides ou fitopatógenos de diferentes etiologias, pode potencializar os

danos na cultura (PINHEIRO; LOPES; HENZ, 2009). Outro aspecto a ser considerado, está relacionado a ampla gama de hospedeiros de *P. brachyurus*, dentre os quais citam-se gramíneas como milho (GOULART, 2008; LORDELLO; LORDELLO; SAWAZAKI, 1992), sorgo (GOULART, 2008) e a soja (GOULART, 2008; FERRAZ, 1995; 1996), sendo as duas primeiras rotineiramente utilizadas em rotação com a cultura da batata (PINHEIRO; LOPES; HENZ, 2009). Considerando-se *P. brachyurus* como uma das principais espécies do nematoide das lesões para a cultura da batata (SANTOS, 2003; SILVA; SANTOS, 2007), são necessárias investigações com maior ênfase sobre a resistência genética de outros genótipos de batata a *P. brachyurus*; além de estudos para avaliação do nível de dano nos tubérculos por *Pratylenchus* spp.

Tabela 4 - Reação de genótipos de batata a *Pratylenchus brachyurus*. Pelotas/RS, 2013.

Genótipos	FR	Reação
Sorgo BRS 506**	6,76*	S
BRS Ana	0,55b	R
BRS Clara	0,00c	I
Asterix	1,00a	MR
BRSIPR Bel	0,00c	I
BRS Eliza	0,00c	I
Cristina	0,00c	I
Agata	0,50b	R
Cota	0,55b	R
Catucha	0,55b	R
C.V.	67,50	

*Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott & Knot a 5%; **Testemunha suscetível; FR= Fator de Reprodução; (I) imune; (R) resistente; (MS) moderadamente suscetível; (S) suscetível; (AS) altamente suscetível; CV= Coeficiente de variação.

4.3.2 Seleção de acessos de batata silvestre resistentes a *M. javanica*.

Estudando-se a reação dos genótipos das batatas silvestres a *M. javanica*, verificou-se que a grande maioria dos materiais testados foi suscetível ao nematoide (Tabela 5).

Em relação ao número de galhas nas raízes, verificou-se que os valores foram diretamente proporcionais aos respectivos FR na maioria dos acessos avaliados, sendo '46-10', o genótipo que apresentou o maior número de galhas em comparação aos demais.

Entre os materiais avaliados, apenas os acessos 675 e 68-16 comportaram-se como resistentes e 51-9 como moderadamente suscetível a *M. javanica* (Tabela 5). Convém ressaltar que os acessos onde foi encontrada resistência ao nematoide, apresentam, em sua genealogia, parentais de *S. chacoense* spp. Chacoense e *S. berthaultii* com Mirka (Tabela 1). Apesar de não haver relatos na literatura do nível de resistência de '675' ao nematoide das galhas, este acesso apresenta resistência a outras doenças importantes para a cultura da batata como à requeima (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary), doença muito importante à cultura da batata (NOWICKI et al., 2012).

Di Vito et al. (2003) testando a reação de diferentes clones de *S. tuberosum* e genótipos de batatas silvestres a diferentes espécies de *Meloidogyne*, verificaram que um acesso de *S. chacoense* foi resistente a *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. incognita* e *M. hapla* e apresentou um baixo índice de galhas, fato esse relacionado aos acessos 68-16 e 51-9, que além de terem apresentado um valor de FR menor que um, também apresentaram menor número de galhas, sendo esse efeito mais expresso no primeiro acesso. Da mesma forma, em outros estudos, também foi verificada a resistência de *S. chacoense* a várias espécies do nematoide das galhas (HAWKES; HJERTING, 1989; HAWKES, 1994). Em outro trabalho, Janssen et al. (1996) verificaram resistência a campo de dois genótipos de *S. chacoense* a *M. hapla* e *M. fallax*. Além disso, Casa-Coila et al. (2012), avaliando a reação *in vitro* de 28 genótipos de diferentes espécies de batata (*Solanum* spp.) a *P. infestans*, verificou que três acessos de *S. chacoense*, incluindo '68-16', apresentaram baixo índice de severidade da doença.

Tabela 5. Reação de genótipos de batata cultivada e acessos de batata silvestre a *Meloidogyne javanica*. Pelotas/RS, 2013.

Acessos/cultivar	Nº de galhas**	FR	Reação
BRS Ana ¹	278,00a*	36,84a	AS
61-8	120,16c	22,87b	S
46-10	177,00b	20,74b	S
SCH-68	137,17c	18,19b	S
511	111,00c	17,11b	S
56-8	133,00c	14,56c	S
45-4	98,16c	13,69c	S
664	87,17c	12,72c	S
676	88,00c	12,06c	S
546	65,83d	11,88c	S
NYL-235 cv. Prince Hairy	91,83c	11,64c	S
543	88,16c	11,62c	S
<i>S. calvescens</i>	82,16c	11,07c	S
545	92,50c	10,99c	S
68-8	108,00c	10,66c	S
525	53,83d	7,24d	S
513	56,16d	6,82d	S
499	44,50d	6,81d	S
63-2	43,50d	5,48d	S
55-5	52,50d	5,29d	S
55-7	28,50e	4,76d	S
44-7	26,00e	4,33d	S
51-9	49,50d	1,12e	MS
675	24,00e	0,84f	R
68-16	4,66e	0,66f	R
C.V.	25,63	32,13	

*Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott & Knot a 5%; ** valores originais transformados em $\sqrt{x+1}$; FR = Fator de reprodução; (R) resistente; (MS) moderadamente suscetível; (S) suscetível; (AS) altamente suscetível; CV= Coeficiente de variação; ¹ = Testemunha suscetível.

De acordo com Scurrah (2008) citado por Pinheiro e Lopes (2011), em pesquisas realizadas pelo Centro Internacional de la Papa (CIP-Peru), foram identificados genes de resistência em *S. sparsipilum* a *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*. Conforme o autor, atualmente essa espécie está sendo utilizada em programas de melhoramento avançado na França e em outros países com perspectivas de lançamento de futuros materiais com resistência ao nematoide das galhas; porém, em nenhum dos acessos testados nesse estudo, há registro de *S. sparsipilum* como progenitor.

Considerando-se, os resultados obtidos nesse estudo, o uso dos acessos resistentes a *M. javanica* em programas de melhoramento, pode representar um avanço significativo na obtenção de futuros clones e cultivares de batata resistentes a essa praga, constituindo-se assim, como importantes progenitores em cruzamentos visando a obtenção não só de germoplasma resistente ao nematoide das galhas mas também a outras doenças.

4.3.3 Penetração, desenvolvimento e reprodução de *M. javanica* em genótipos de batata resistente e suscetível

Entre 5^o ao 10^o dia após a inoculação (DAI), verificou-se maior número de J2 de *M. javanica* penetrados nas raízes (5 a 10 vezes) da cultivar BRS Ana comparativamente ao acesso silvestre 68-16 9 (Tabela 6, Figuras 2 e 3). A partir do 15^o DAI, detectou-se a presença de juvenis de terceiro e quarto estágio (J3/J4) em ambos genótipos; no entanto até o 25^o DAI, houve considerável aumento do número de J3/J4 nas raízes em 'BRS Ana' ao passo que no acesso 68-16, metade dos indivíduos quantificados eram J2 e a outra metade estavam na fase J3/J4. No período entre 25 e 30 dias, não foram encontrados J2 nas raízes da cv. Ana, no entanto, além de J3/J4, foi observada a presença de fêmeas adultas e machos; e nas raízes de '68-16', ainda foram ser observados juvenis de *M. javanica* nos estádios J2 e J3/J4, como pode ser observado nas figuras 3 e 4.

Tabela 6. Avaliação da penetração e desenvolvimento de *M. javanica* em raízes de batata da cultivar BRS Ana e do acesso silvestre 68-16 inoculadas com o nematoide. Pelotas/RS, 2013.

Estádio	Genótipo	Número de indivíduos/sistema radicular Dias após a inoculação							
		5	10	15	20	25	30	35	40
J2	BRS Ana	993,8	1119,3	946,3	222,0	99,3	0,0	14,3	1562,5
	68-16	90,0	454,5	519,3	572,8	664,8	348,8	54,0	0,0
J3/J4	BRS Ana	0,0	0,0	412,8	1115,0	1084,3	556,5	134,0	10,8
	68-16	0,0	0,0	10,3	46,3	664,8	256,3	474,3	420,0
Fêmeas	BRS Ana	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	873,8	1338,3	1475,5
	68-16	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	83,3	549,8
Machos	BRS Ana	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	68-16	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,3	9,8	22,3

J2- juvenil de segundo estágio; J3/J4, juvenil de terceiro e quarto estágio.

Decorridos 35 dias da inoculação do nematoide, constatou-se a presença de J2 de *M. javanica* nas raízes da cv. BRS Ana, além de indivíduos J3/J4, um grande número de fêmeas adultas e também a presença de machos. Em relação ao genótipo '68 – 16', ainda foi detectado um pequeno número de J2, aumento de indivíduos J3/J4 e a ocorrência de fêmeas nas raízes (Figura 2). Conforme a tabela 6, aos 40 DAI, não foi detectada a presença de J2 nas raízes do acesso silvestre; metade dos indivíduos contabilizados estavam no estágio de desenvolvimento J3/J4 e a outra metade já haviam se transformado em fêmeas adultas em proporção de 1:3 em relação a cultivar BRS Ana.

Analisando-se a figura 2, verificou-se o maior número de J2 penetrados nas raízes da cv. BRS Ana considerando todos os períodos de avaliações. Este fato pode estar associado a presença de fêmeas adultas observadas entre o 25^o e o 30^o dia após a inoculação, dos quais formaram-se novos J2 dos ovos produzidos, ocorrendo assim, a reinfestação da planta. De acordo com Gomes e Souza (2003) e Pinheiro e Lopes (2011), as fêmeas do nematoide das galhas podem colocar até 1000 ovos em uma única massa de ovo em três e seis semanas. Porém, no acesso, 68-16 tal fato não foi observado, mesmo aos 40 dias; uma vez que a observação de massas de ovos nas raízes desse genótipo, foi verificada somente aos 65 DAI, evidenciando o aumento do ciclo

de vida de *M. javanica* em relação a cultivar suscetível, conforme pode ser observado na figura 4.

Avaliando-se a reprodução do nematoide em ambos os genótipos, a cultivar BRS Ana comportou-se como suscetível (FR=20,03) e o acesso 68-16 como resistente (FR=0,87) a *M. javanica* (dados não apresentados), confirmando os resultados observados nas tabelas 2 e 5. Os machos foram observados apenas no genótipo 68-16, 30 dias após a inoculação (Figuras 2 e 4). De acordo com SILVA (2001), em raízes de plantas resistentes, poucos nematoides desenvolvem-se até o estágio adulto, há formação de número maior de machos e quando eventuais fêmeas reproduzem, o fazem com taxas mais baixas de fecundidade.

Geralmente, o ciclo de vida de *M. javanica* e outras espécies do mesmo gênero é de 25 dias em temperaturas próximas de 28°C em plantas suscetíveis (CHARCHAR; ARAGÃO, 2005). Outros autores também mencionaram que *M. javanica* pode se desenvolver temperaturas de 25 a 30°C e de 18 a 32°C (LORDELLO, 1992; PINHEIRO; LOPES, 2011). Moura (1996) menciona que a duração do ciclo depende de fatores diversos como a temperatura e condições de hospedabilidade da planta, e que às vezes estas tendem a ampliar a duração do ciclo quando as plantas não são boas hospedeiras (DAVID; TRIANTAPHYLLOU, 1967; WINDHAM; WILLIAMS, 1994). Outro aspecto importante no ciclo do nematoide é a formação e aparecimento de machos, sendo que em condições normais e com um índice adequado de parasitismo, predomina sempre a formação de fêmeas (LORDELLO, 1992). Porém, quando a planta é má hospedeira ou está no final do ciclo, debilitada e altamente parasitada, o aparecimento de machos é maior, ocorrendo ainda um abandono do hospedeiro (MOURA, 1996), conforme pôde ser observado na Figura 4B e D.

De acordo com Scurrah et al. (2005), após a penetração dos J2 de *Meloidogyne* no tecido da planta hospedeira, a primeira geração ocorre nas raízes; e, a partir da segunda geração os J2 eclodidos, começa a correr a infecção dos tubérculos. Ainda, de acordo com o mesmo autor, o nematoide das galhas pode ter até cinco gerações em genótipo de batata suscetível, com exceção da espécie *M. incognita* que pode ter até 12 gerações; e, a

sobrevivência dessa espécie está relacionada a temperatura, sendo que, naquelas temperaturas baixas ocorre redução das populações e anidrobiose dos J2, o que permite a sobrevivência de algumas espécie de *Meloidogyne* neste estágio.

Embora não tenha sido realizado um estudo histopatológico no presente trabalho, a baixa reprodução de *M. javanica* observada no acesso de batata silvestre 68-16 (*S. chacoense* spp. Chacoense), remete a ocorrência de mecanismos de resistência restringindo o desenvolvimento do nematoide nas raízes parasitadas. Os mecanismos de resistência de plantas a nematoides são vários, complexos e, em alguns casos, poucos conhecidos. A resistência pode ser pré-infectiva se ocorrer antes da penetração do nematoide penetre na raiz da planta (HUANG, 1985), como por exemplo, efeitos repelentes e ou nematicida de determinadas substâncias químicas presentes no exsudato radicular de algumas espécies vegetais. A resistência pode ser também pós-infectivas, ocorrendo após a penetração do J2 com morte celular nos locais de infecção que impedem ou delimitam o desenvolvimento do nematoide no tecido vegetal.

Considerando-se a dinâmica do desenvolvimento de *M. javanica* em ambos genótipos de batata e a amplitude dos estudo realizado, a realização de novos trabalhos envolvendo estudos histopatológicos com o acesso de batata silvestre 68-16, pode contribuir para o conhecimento dos mecanismos de resistência que estão atuando no controle da infecção da planta.

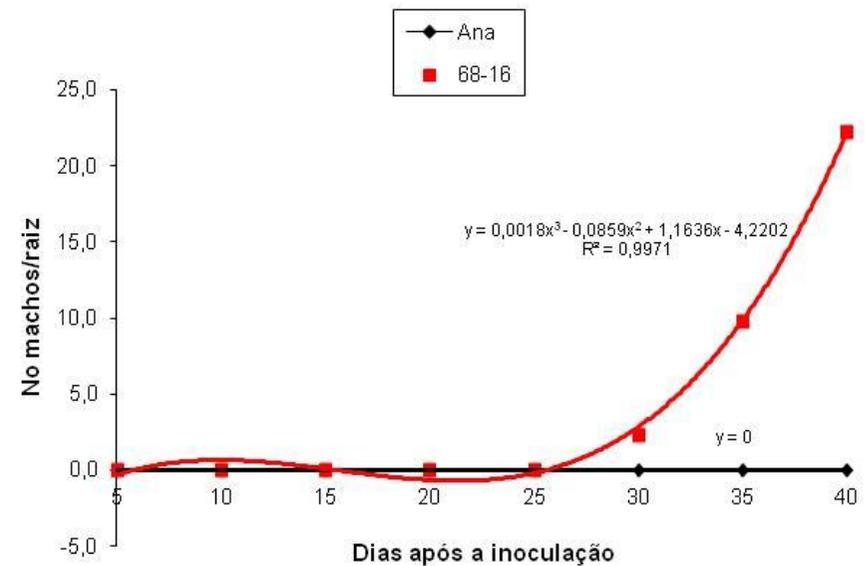
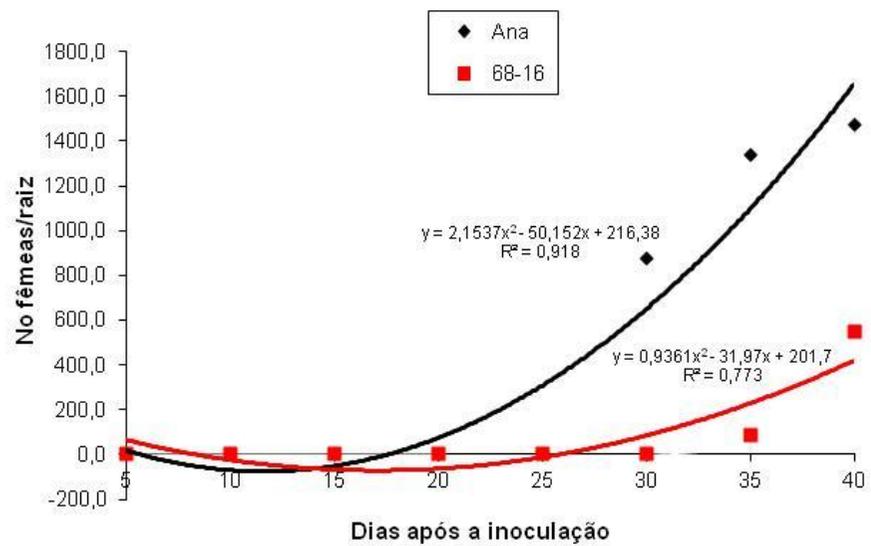
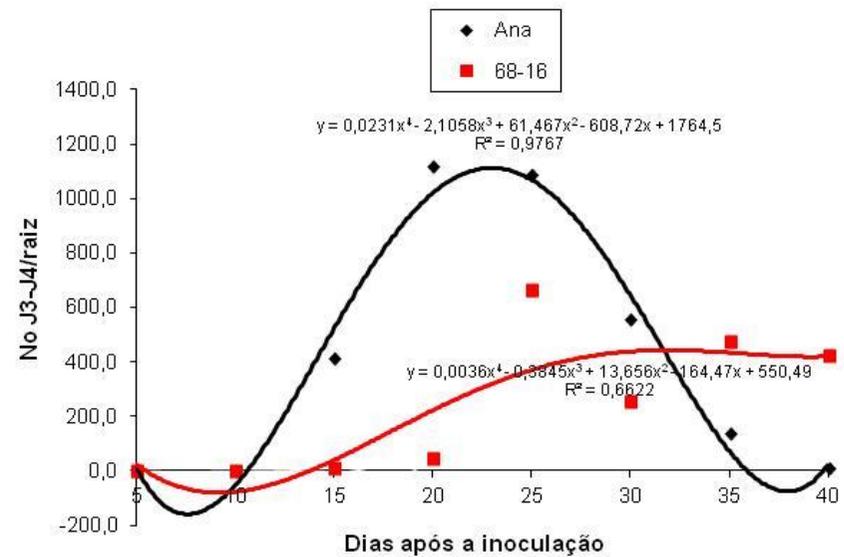
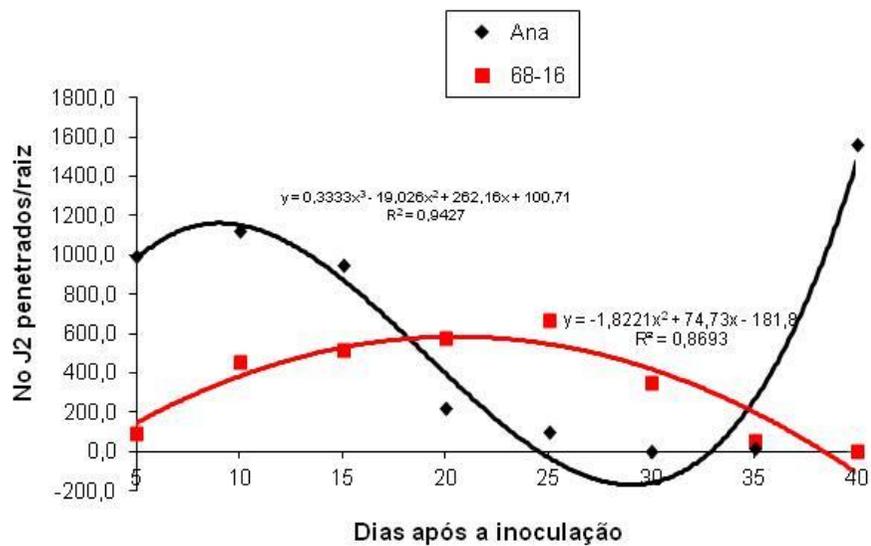


Figura 2. Penetração de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* nos genótipos Ana e 68-16 e evolução dos diferentes estádios de desenvolvimento do ciclo de vida do nematoide por um período de 40 dias a $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Pelotas/RS, 2013.

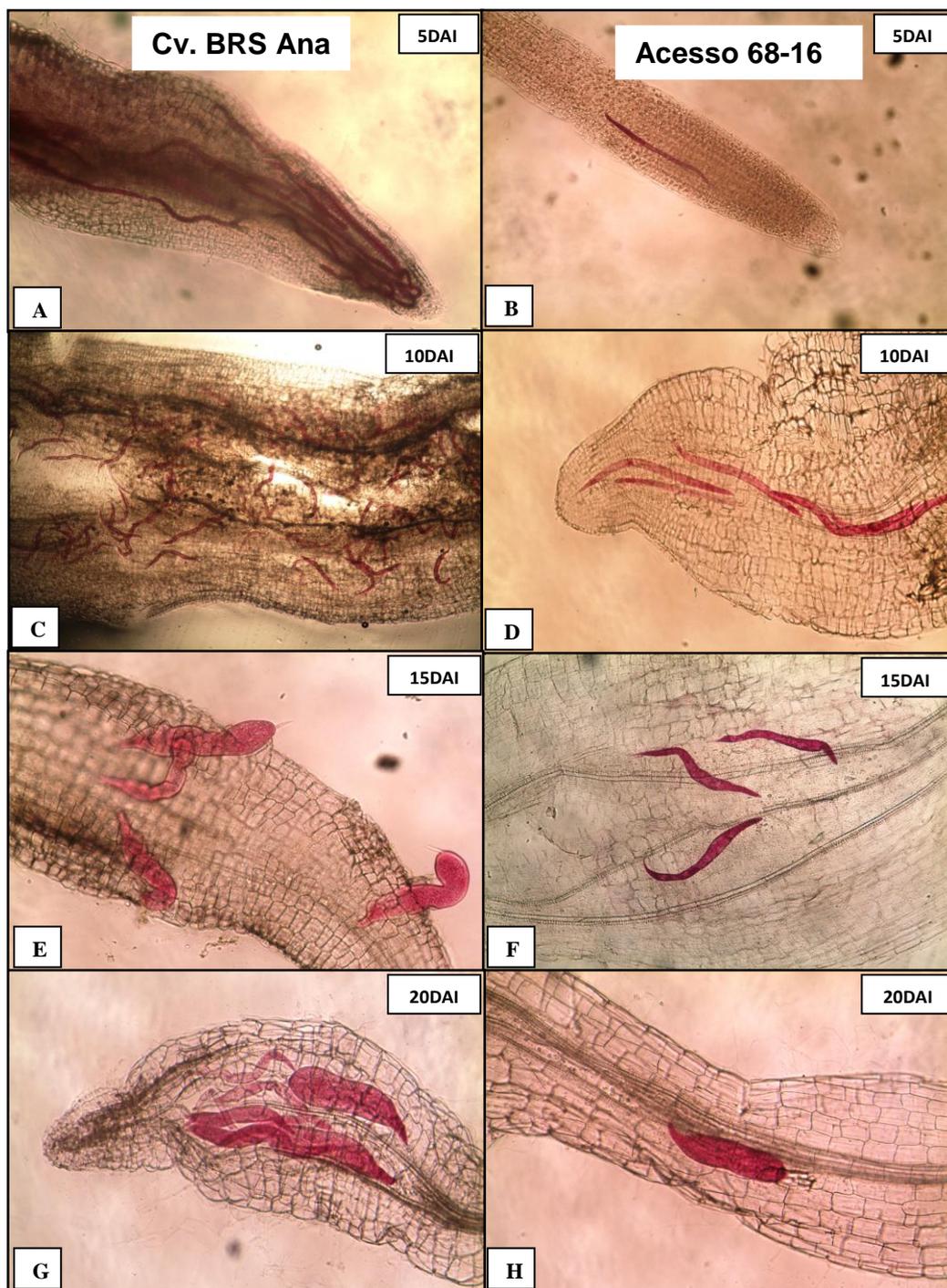


Figura 3. A, B, C e D: radicelas dos genótipos de batata BRS Ana e 68-16 coradas com fucsina ácida, mostrando J2 aos 5 - 10 DAI (dias após a inoculação); E, F, G e H: J3/J4 - desenvolvimento e estabelecimento de indivíduos na raiz no cilindro central aos 15 – 20 DAI. Pelotas/RS, 2013.

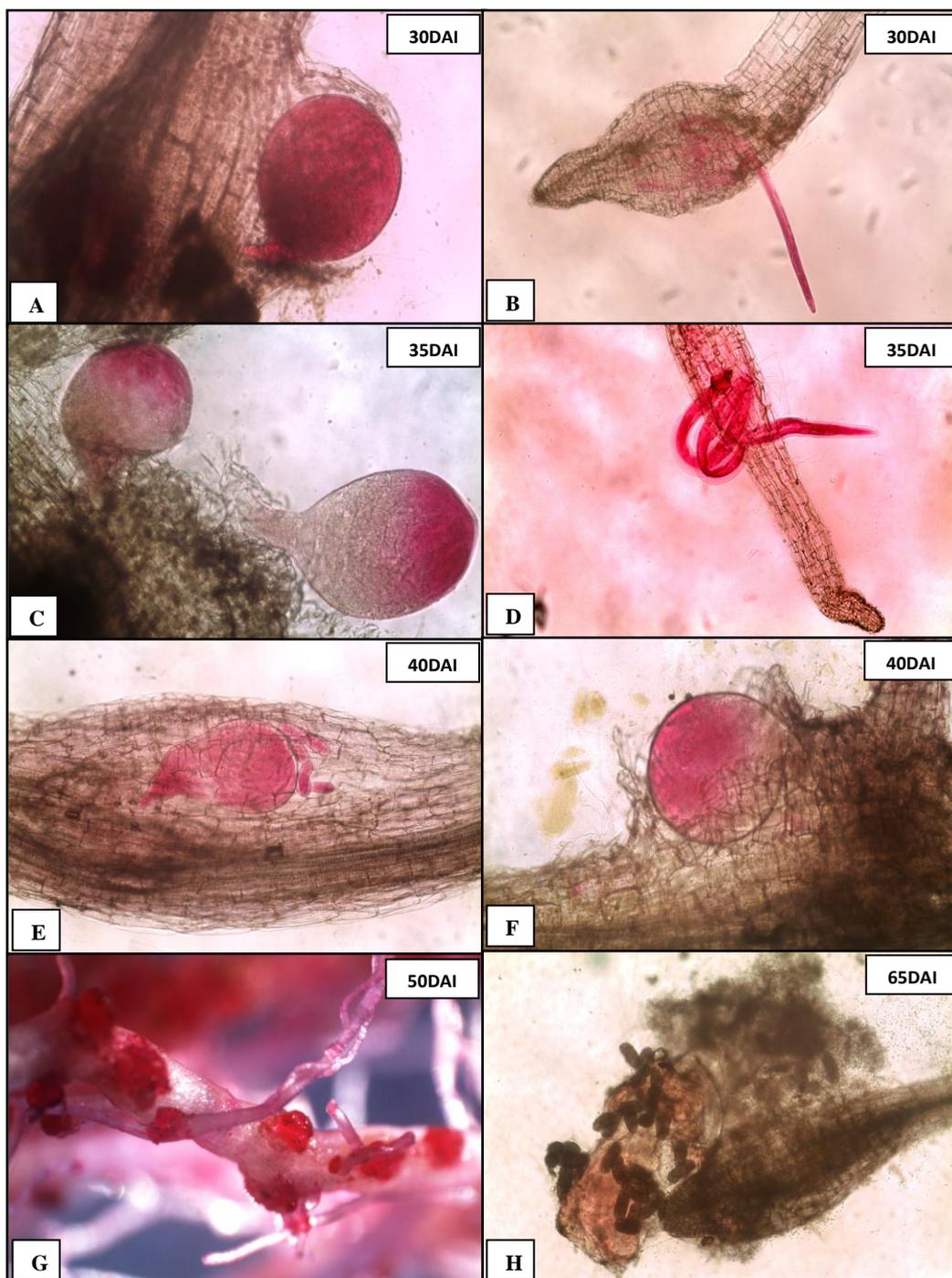


Figura 4. A e C: desenvolvimento de fêmeas de *Meloidogyne javanica* em raízes aos 30 e 35 DAI (dias após a inoculação) no genótipo BRS Ana; B e D: migração de machos das raízes do genótipo 68-16 aos 30 e 35DAI; E: postura de ovos aos 40 DAI no genótipo BRS Ana; F: Desenvolvimento de fêmeas no genótipo 68-16, aos 40 DAI; G e H: formação de massas de ovos nas raízes do genótipo BRS Ana aos 50 DAI, e postura de ovos no genótipo 68-16 aos 65 DAI. Pelotas/RS, 2013.

4.4 Conclusões

A grande maioria das cultivares de batata avaliada é suscetível às populações de *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. incognita*, *M. enterolobii*, *M. ethiopica* e *M. graminicola* testadas;

Existe imunidade e resistência nas cultivares Eliza, Cristina, Asterix e BRSIPR Bel a *M. graminicola*, e resistência moderada na cv.Eliza a *M. ethiopica*;

Existe resistência em genótipos de batata silvestres (*Solanum* spp.) a *M. javanica*.

A duração do ciclo de vida de *M. javanica* é maior em genótipo de batata resistente comparativamente ao suscetível.

5 Conclusões Gerais

M. javanica é a espécie do nematoide das galhas mais frequente na cultura da batata na região do sul do Brasil;

Existe variabilidade intraespecífica entre as populações de *M. javanica*;

Existem populações de *M. javanica* mais agressivas à cultura da batata e há correlação entre danos nos tubérculos e raízes com a reprodução do nematoide;

Há suscetibilidade diferenciada entre os genótipos de batata a *Meloidogyne* spp. e *P. brachyurus*;

Existem acesso de batata silvestres (*Solanum* spp.) resistentes a *M. javanica*, cujo ciclo de vida é mais prolongado.

Referências

- ABBA- Associação Brasileira de Batata. Disponível em: <<http://www.abbabatatabrasileira.com.br/2008/capa.asp>>. Acesso em: 13 de janeiro de 2013.
- AL-HAZMI, A.; IBRAHIM, M.; ABDUL-RAZIG, A. Distribution, frequency and population density of nematodes associated with potato in Saudi Arabia. **Afro-Asian Journal of Nematology**. v.3, p.107-111, 1993.
- ALMEIDA, E. J.; ALVES, G. C. S.; SANTOS, J. M.; RUAS, A. R. Patogenicidade de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira 'Paluma' em condições de microparcelas. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v.33, n.3, p.774-783, 2011.
- ASMUS, G. L.; VICENTINI, E. M.; CARNEIRO, R. M. D. G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado do Mato Grosso do Sul. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.31, n.2, p.112, 2007.
- AUSTIN, S.; POHLMAN, J. D.; BROWN, C. R.; MOJTAHEDI, H.; SANTO, G. S.; DOUCHES, D. S.; HELGESON, J. P. Interspecific somatic hybridization between *Solanum tuberosum* and *S. bulbocastanum* as a means of transferring nematode resistance. **American Potato Journal** v.70, p.485-495. 1993.
- BARKER K. R. Introduction and synopsis of advancements in nematology. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAM, G. L. (Ed.). **Plant and nematode interactions**. Madison: American Society of Agronomy, 1998, p.1-20,
- BARKER, K. R.; KOENNING, R. Developing sustainable systems for nematode management. **Annual Review Phytopathology**, v.36, p.165-205, 1998.
- BARKER, K. R.; SCHMITT, D. P.; IMBRIANI, J. L. Nematode population dynamics with emphasis on determining damage potential to crops. In An advanced treatise on *Meloidogyne*. Volumen II, Methodology. BARKER, K. R.; CARTER, C. C.; SASSER, J. N. (Eds.). North Carolina State University Graphics. Raleigh, North Carolina, U.S.A. p.135-148, 1985.
- BERTHET, J. A., 1955. Verruga das batatas. **Boletim de Agricultura**, nº16 1054p.

BLOCK, V. C.; PHILLIPS, M. S.; McNICOL, J. W. FARGETTE, M. Genetic variation in tropical *Meloidogyne* spp. As shown by RAPDs. **Fundamental and Applied Nematology** v.20, p.127-133, 1997.

BONETTI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, p.553, 1981.

BOOCK, O. J. LORDELLO, L. G. E. Nematoides da batata in: ministerio da agricultura. AGIPLAN. **Tecnologia e produção de batata-semente**: coletânea de artigos de técnicos. AGIPLAN, Brasilia, 1976, p.149-161.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da Defesa Sanitária. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 41, DE 1º DE JULHO DE 2008. Publicado no Diário Oficial da União de 02/07/2008 , Seção 1 , p. 8.

BRIDGE, J.; PLOWRIGHT, R. A.; PENG, D. Nematodes parasites of rice. In LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Ed.). Plant parasitic nematodes In: _____. **Subtropical and Tropical Agriculture**. 2 ed. Wallingford: CABI Publishing, 2005. 871 p.

BRINKMAN, H.; MULDER, A. Root-lesion nematode. In: _____. ASSCHEMAN, E.; BOKX, J. A.; BRINKMAN, H.; BUS, C. B.; Van DELFT, M.; HOTSMA, P. H.; MEIJERS, C. P.; MULDER, A.; SCHOLTE, Y.; TURKENSTEEN, L. J.; WUSTMAN, R.; Van Der ZAAG, D. E. (Ed.). Potato disease, pest and defects. Holland: NIVAA, 1996, 180p.

BRODIE, B. B., EVANS, K.; FRANCO, J. 1993. Nematode Parasites of Potatoes, p.87- 132. In K. Evans, D. L. Trudgill and J. M. Webster [eds.], Plant Parasitic Nematodes in Agriculture. CAB International/University Press, Wallingford, UK.

BROWN, C. R.; MOJTAHEDI, H. Breeding potato for resistance to *Meloidogyne* species and trichodorid-vectored viruses. In: _____. **Breeding the Solanaceae** (in press), 2004. 2p.

BROWN, C. R.; MOJTAHEDI, H.; JAMES, S.; NOVY, R. G.; LOVE, S. Development and evaluation of potato breeding lines with introgressed resistance to columbia root-knot nematode (*Meloidogyne chitwoodi*). **American Journal of Potato Research**, v.83, p.1-8, 2006.

BROWN, C. R.; MOJTAHEDI, H.; SANTO, G. S. Resistance to Columbia root-knot nematode in *Solanum* spp. and in hybrids of *S. hougasii* with tetraploid cultivated potato. Orono, **American Journal Potato**, v.68, p.445-452, 1991.

BYRD, D. W.; KIRKPATRICK, T.; BARKER, K. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection nematodes. **Journal of Nematology**. v.15, p.142-143, 1983.

CAFÉ FILHO, A. A. Danos por nematoides. In: _____. REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Ed.). **Produção de Batata**. Brasília: Linha Gráfica Editora, 1987, p.118-126.

CANTERI, M. G.; ALTHAUS, R. A.; VIRGENS FILHO, J. S.; GIGLIOTI, E. A.; GODOY, C. V. SASM - AGRI: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1, n.2, p.18-24, 2001.

CANTO-SAENZ, M.; BRODIE, B. B. Host efficiency of potato to *Meloidogyne incognita* and damage threshold densities on potato. **Nematropica**, v.16,n.2, p.109-116, 1986.

CARNEIRO, R. G.; MÔNACO, A. P. A.; MORITZ, M. P.; NAKAMURA, K. C.; SCHERER, A. Identificação de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e em plantas invasoras, em solo argiloso, no Estado do Paraná. **Nematologia Brasileira**, v.30, n.3, p.293-298, 2006.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides das galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**. v.25, n.1, p.35-44, 2001.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, A. R. A.; CARNEIRO, R. G. Enzyme phenotypes of Brazilian isolates of *Meloidogyne* spp. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 19, n. 3, p.555-560, 1996.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; COFCEWICZ, E. T.; MAGUNACELAYA, J. C.; ABALLAY, E. *Meloidogyne ethiopica*, a major root-knot nematode parasitising *Vitis vinifera* and other crops in Chile. **Nematology**, v. 9, n.5, p.635-641, 2007.

CARNEIRO, R. M. D. G.; MOREIRA, W. A.; ALMEIDA, M. R. A.; GOMES, A. C. M. M. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.25, n.2, p.223-228, 2001.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; QUÉNÉHÉRVÉ, P. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* spp. populations. **Nematology**, v.2, p.645-654, 2000.

CARNEIRO, R. M. D. G.; RANDIG, O.; ALMEIDA, M. R. A.; CAMPOS, A. D. Resistance of vegetable crops to *Meloidogyne* spp.: suggestion for a crop rotation. **Nematologia Brasileira**, v.24, p.49-54, 2000a.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CASTAGNONE-SERENO, P.; DICKSON, D. W. Variability among isolates of *Meloidogyne javanica* of Brazil. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 21, n. 2, p. 319-326, 1998.

CARNEIRO, R. M. D. G.; GOMES, C. B.; ALMEIDA, M. R.; GOMES, A. C. C.; MARTINS, I. Primeiro registro de *Meloidogyne ethiopica* Whitehead, 1968 em plantas quivi no Brasil e reação em diferentes plantas hospedeiras. Rev. **Nematologia Brasileira**, v.27, n.2, p. 152-158, 2003.

- CARNEIRO, R. M. D. G.; TIGANO, M. S.; 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, 2004a.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; RANDING, O.; ALMEIDA, M. R. A.; GOMES, A. C. M. M. Additional information on *Meloidogyne ethiopica* Whitehead, 1968 (Tylenchida: Meloidogynidae) a root-knot nematode parasitising kiwi fruit and grape-vine from Brazil and Chile. **Nematology**. v.6, p.109-123, 2004.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; SANTOS, M. F. A.; ALMEIDA, M. R. A.; MOTA, F. C.; TIGANO, M. S. Diversity of *Meloidogyne arenaria* using morphological, cytological and molecular approaches. **Nematology**, v.10, p.819-814, 2008.
- CASA-COILA, V. H.; GOMES, C. B.; LIMA-MEDINA, I.; SOMAVILLA, L.; CASTRO, C. M. Resistencia foliar in vitro de espécies silvestres de batata a *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary In: **Congresso de la Asociación Latinoamericana de la Papa** – ALAP, Uberlândia (Resumo).
- CASTILLO, P.; VOVLAS, N. **Bionomics and identification of the Genus *Rotylenchus* (Nematoda: Hoplolaimidae)**. Leiden, Netherlands Brill Academic Publishers, 2005. 377p.
- CASTRO, J. M. C.; LIMA, R.; CARNEIRO, R. M. D. C. Variabilidade isoenzimática de populações de *Meloidogyne* spp. proveniente de regiões brasileiras produtoras de soja. **Nematologia Brasileira**, v.27, n. 3, p.1-12, 2003.
- CASTRO, José Mauro da Cunha. **Caracterização de populações de *Meloidogyne* spp. de regiões brasileiras produtoras de soja**. 2001, 82f. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- CHARCHAR, Jose Maria. M. Ciclo de vida de *Meloidogyne* spp. em batata. Gama, DF: Embrapa Hortaliças, **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. 20p. 2001.
- CHARCHAR, J. M. Nematoides em Hortaliças. **Circular Técnica 18**. Embrapa Hortaliças: Brasília-DF, 12p., 1999.
- CHARCHAR, J. M. Nematoides associados a cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) nas principais regiões de produção do Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.21, n.2, p.49-60, 1997.
- CHARCHAR, J. M. *Meloidogyne* em hortaliças. In: _____. CONGRESSO INTERNACIONAL DE NEMATOLOGIA TROPICAL, XXVII; CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, 19; ENCONTRO ANUAL DA ORGANIZAÇÃO DOS NEMATOLOGISTAS DA AMERICA TROPICAL, 27., 1995, Rio Quente. Programa e **anais...** Rio Quente: SBN/ONTA, 1995. p.149-153.

CHARCHAR, J. M. Comportamento de cultivares de batata à infecção por nematoides das galhas. II. *Meloidogyne javanica*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.8, p.39, Resumo. 1990.

CHARCHAR, J. M.; ARAGÃO, F. A. Variação anual da população mista de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* em cultivos de batata 'Bintje' no campo. **Nematologia Brasileira**. v.29, n.2, p.225-231, 2005.

CHARCHAR, J. M.; MOITA, A. W. Resistência de genótipos de batata a *Meloidogyne javanica*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n.3, p.535-540, 2001.

CHARCHAR, J. M. Ciclo de vida de *Meloidogyne* spp. em batata. Gama, DF Embrapa Hortaliças, **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento** n.1. 20p., 2001.

CHARCHAR, J. M.; MOITA, W. M. Reação de cultivares de batata a uma infestação mista de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**. Piracicaba, v.21, p.39-47, 1997.

CHARCHAR, J. M.; MOITA, A. W. Reação de cultivares de batata à infecção por *Meloidogyne incognita* raça 1. **Horticultura Brasileira**, v.14, n.2, p.189-193, 1996.

CHARCHAR, J. M.; OLIVEIRA, V. R.; MOITA, A. W. Penetração, desenvolvimento e reprodução de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* em cultivares de batata no campo. **Nematologia Brasileira**. v.33, n.2, p.147-153, 2009.

CHARCHAR, J. M.; GONZAGA, V.; VIEIRA, J. V.; OLIVEIRA, V. R.; MOITA, A. W. Efeito de nematicidas fumigantes e não fumigantes no controle de *Meloidogyne* spp. em batata e cenoura. **Nematologia Brasileira**, v.31, p.59-66, 2007.

CHARCHAR, J. M.; PACCINI N. J. Controle químico de espécies de *Meloidogyne* baseado em seus ciclos biológicos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.8, n.1, p.40, 1990. Resumo.

CHAVES, E.; TORRES, M. Nematodos parasitos de la papa en regiones productoras de papa semilla en la Argentina. **Revista de la facultad de agronomia** v.21, p.245-259, 2001.

CHRISTIE, J. R.; PERRY, V. G. Removing nematodes from soil. Proceedings of helminthological society of Washington, v.17, p.1006-108, 1951.

COFCEWICZ, Elis Teresinha. **Diversidade de populações de *Meloidogyne* spp. em bananeiras no Brasil e nas Antilhas e sua patogenicidade a cultivares de *Musa* spp.** 2003. 97f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

COFCEWICZ, E. T.; CARNEIRO, R. M.D.G.; CASTAGNONE-SERENO, P.; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotypes and genetic diversity of root-knot nematodes parasitising *Musa* in Brazil. **Nematology**, v.6, n. 1, p.85-95, 2004.

COFCEWICZ, E. T.; CARNEIRO, R. M.D.G.; RANDING, C.; CHABRIER, C.; QUÉNÉHERVÉ, P. Diversity of *Meloidogyne* spp. On *Musa* in Martinique, Guadeloupe, and French Guiana. **Journal of Nematology**, v.37, n. 3, p.313-322, 2005.

CURI, S. M.; SILVEIRA, S. G. P.; MIRANDA, H.; VIVARELLI, J. B. *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev e Schurmans Stekhoven, 1941 em batata no estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**. v.14, p.143-145, 1990.

DAVID, R. G.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Influence of the environment on development and sex differentiation of root-knot nematodes. I. Effect of infection density. Age of the host plant and soil temperature. **Nematologica**, v.13, p.102-110, 1967.

DE LEÓN, L.; LÓPEZ-PÉREZ, J. A.; RODRIGUEZ, A.; CASANOVA, D.; ARIAS, M.; BELLO, A. Manejo de *Meloidogyne arenaria* en cultivo de acelga bajo cubierta em Uruguay. **Nematropica**, v.31, p.103-108, 2001.

DESLANDES, J. Vermes. In: _____. Deslandes, J. ed. **Doenças da batata: medidas de prevenção**. Ministério da Agricultura, Serviço de Defesa Sanitária Vegetal, Rio de Janeiro, 1935. p.17-18.

DI VITO, M.; GRECO, N.; CARPUTO, D.; FRUSCIANTE, L. Response of wild and cultivated potato clones to Italian populations of root knot nematodes *Meloidogyne* spp. **Nematropica**, v.33, p.65-72, 2003.

EISENBACK, J. D., HIRSCHMANN, H. Morphological comparison of *Meloidogyne* males by scanning electron microscopy. **Journal of Nematology**, v.12, n.1, p.23-32, 1980.

EISENBACK, J. D., HIRSCHMANN, H. Morphological comparison of second-state juveniles of several *Meloidogyne* species (root-knot nematodes) by scanning electron microscopy. **Scanning Electron Microscopy III**. p.223-230, 1979.

EISENBACK, J. D., HIRSCHMANN, H., TRIANTAPHYLLOU, A. C. Morphological comparison of *Meloidogyne* female head structures, perineal patterns, and stylets. **Journal of Nematology**, v.12, n.4, p.300-313, 1980.

ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Isozyme phenotypes for the identifications of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, v.22, n.1, p.10-15, 1990.

ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Use of enzyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, v.17, n.1, p.6-20, 1985.

FELSENSTEIN, J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. **Evolution**, v.39, p.783-791, 1985.

FERRAZ, L. C. C. B. Gênero *Pratylenchus* - os nematoides das lesões radiculares. In: _____. R.A.P.P. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, Gráfica e Editora PE. Berthier, 1999, v.7, p.157-195.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO A. R. Nematoides. In: _____. Manual de Fitopatologia volume 1: princípios e conceitos. 3ra. ed. São Paulo: Ceres, 1995. p.168-201.

FERRAZ, L. C. C. B. Patogenicidade de *Pratylenchus brachyurus* a três cultivares de soja. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.19, n.1, p.01-08, 1995.

FERRAZ, L. C. C. B. Reações de genótipos de soja a *Pratylenchus brachyurus*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.20, n.1, p.22-31, 1996.

FERRAZ, F.; MENDES, M. de L. O nematoide das galhas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.16, n.172, p.43-45, 1992.

FORTES, G. R. L.; PEREIRA, J. E. S. Batata-semente pré-básica. Cultura de tecidos. In: _____. PEREIRA, A. S.; DANIELS, J. (Ed.). **O cultivo da batata na região sul do Brasil**, Brasília: Embrapa: Embrapa Informação Tecnológica, 2003, p.421-433.

GALLI, F.; TOKESI, H.; CARVALHO, P. C. T.; BALMER, E.; KIMATI, H. C. CARDOSO, O. N.; SALGADO, C. L. 1968. MANUAL DE FITOPATOLOGIA, doenças das plantas e seus controles. Agronômica Ceres, São Paulo, 640p.

GOMES, C. B. Tubérculo livre de nematoides vale mais. **A Granja**, p.58-60, 2010.

GOMES, C. B.; COUTO, M. E.; CARNEIRO, R. M. D. G. Registro de Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em Goiabeira (*Psidium guajava* L.) e Fumo (*Nicotiana tabacum* L.) no Sul do Brasil. **Nematologia Brasileira** v.32, p.244-247, 2008.

GOMES, C. B.; SOUZA, R. M. Doenças Causadas por Nematoides, In: _____. **O cultivo da batata na região Sul do Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2003. p.321-349.

GOMES, C. B.; SOMAVILLA, L.; CARNEIRO, R. M. D. G.; ZECCA, A. G. D.; COSTA, F. A.; LIMA-MEDINA, I. Monitoramento do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) em figueira (*Ficus carica* L.) no Rio Grande do Sul Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento** 86, 2009a.

GOMES, C. B.; STEFFEN, R. B.; ANTONIOLLI, Z. I. Levantamento do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) em arroz irrigado na Região Sul do

Brasil. Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS. **Boletim de Pesquisa e extensão**, n.87, 2009.

GOMES, C. B.; PEREIRA, A. da S.; STOCKER, C. M.; BOSENBECKER, V. K. Reação de genótipos de batata à requeima (*Phytophthora infestans*). Embrapa Clima Temperado. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, v.83, 16p. 2009b.

GOMES, C. B.; CARBONARI, J. J.; MEDINA, I. L.; LIMA, D. L. 2005. Levantamento de *Meloidogyne ethiopica* em viveiros de quivi no Rio Grande do Sul e registro da ocorrência em fumo (*Nicotiana tabacum*) e guanxuma (*Sida rhombifolia*). In: _____. **CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, XXV**, Piracicaba (SP). Resumos, p.69.

GOMES, M. M. A. C. **Resistência e caracterização histológica de *Pfaffia glomerata* a *Meloidogyne incognita***. 2006. 58f. Brasília: Dissertação (Mestrado) Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília.

GONZAGA, V. **Caracterização morfológica, morfométrica e multiplicação in vitro das seis espécies mais comuns de *Pratylenchus* Filipjev, 1936 que ocorrem no Brasil**. 2006. 94f. Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo.

GOULART, A. M. C. **Aspectos Gerais sobre nematoides das lesões radiculares (gênero *Pratylenchus*)**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008. 30 p (Documentos – ISSN p.1517-5111; 219).

HARTMANN, K. M.; SASSER, J. N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal patterns morphology. In: _____. BARKER, K. R.; CC. CARTER & J. N. SASSER (Eds). **An advanced treatise on *Meloidogyne***. v.2. Methodology. North Carolina State University Graphics, Raleigh, 1985, p.69-77.

HAWKES, J. Origins of cultivated potatoes and species relationship p.3-42, In: _____. J. E. Bradshap and G. R. Mackay eds. Potatoes Genetics CAB International Wallingford, U. K. 1994.

HAWKES, J.; HJERTING, J. P. **The potatoes of Bolivia: their breeding value and evolutionary relationship**. Oxford University Press, New York, 472p. 1989.

HUANG J. S. Mechanisms of resistance to root-knot nematodes. In: BARKER, K. R.; CARTER, C. C.; SASSER, J. N. (Eds). **An advanced treatise on *Meloidogyne: Biology and control***. Raleigh: North Carolina State University, 1985. p.165-175.

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

IBGE. 2012. ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. Rio de Janeiro.

JANSSEN, G. J. W.; JANSSEN, R.; VAN NOREL, A.; HOOGENDORN, C. J. Expression of resistance to the root-knot nematodes, *Meloidogyne hapla* and *M. fallax* in wild *Solanum* spp. Under field condition. **European Journal of Plant Pathology**, v.102, p.859-865, 1996.

JATALA, P. **Nematodos parasitos de la papa**. Centro Internacional de la Papa-CIP, 19p. 1986.

JATALA, P. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* species) na their effect on potato quality. In: 6th Triennial Conference of the EAPR, Wageningen, The Netherlands, 1975.

JATALA, P.; WATANABE, K.; GUEVARA, E. Advances in breeding and screening potatoes for resistance to *Meloidogyne incognita*. **Nematropica**, v.21, n.2, p.128, 1991.

JIMENEZ-PEREZ, N.; CROZZOLI, R.; GRECO, N. Nematodos fitoparasitos asociados com el cultivo de la papa en el estado Lara, Venezuela. **Fitopatologia Venezolana**. v.20, n.2, p.34-40, 2007.

LAX, P.; DOUCET, M. Nematodos fitoparásitos y el cultivo de papa em Argentina. In **I Workshop: Manejo Fitossanitário na Cultura da Batata**, 2011.

LIMA, I. M.; MARTINS, M. V. V.; SERRANO, L. A. L.; CARNEIRO, R. M. D. G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira cv 'Paluma' no estado do Espírito Santo Resumo. **Nematologia Brasileira** v.31, p.133, 2007.

LIMA-MEDINA, I.; GOMES, C. B.; NAZARENO, N. R. X. Registro da ocorrência de *Meloidogyne ethiopica* em batata no estado do Paraná. In: _____. Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 44., 2011, Bento Gonçalves. [Anais...]. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 36, sup. p. 0177, 2011.

LIMA-MEDINA, I.; GOMES, C. B. Respuesta varietal de cultivares de papa al nematodo del nudo de la raíz *Meloidogyne javanica* In: XLII Reunión Anual de ONTA, Resumo. p.42, 2010.

LOOF, P. A. A. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. In: _____. NICKLE, W. R. (ed.). **Manual of agricultural nematology**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1991. p. 363-421.

LOPES, E. B.; LORDELLO, L. G. E. Nematoides associados à batatinha (*Solanum tuberosum* L.) na Paraíba. **Sociedade Brasileira de Nematologia**, v.4, p.143-157, 1980.

LORDELLO, R. R. A.; LORDELLO, A. I. L.; SAWAZAKI, E. Flutuação e controle de *Pratylenchus* spp. em milho. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.18, p.146-152, 1992.

LORDELLO, L. **Nematoides das plantas cultivadas**. 8ed. Sao Paulo: Nobel S.A. 1992, 314 p.

LOUBSER, J. T. Evaluation of nematode problems in grapevines. **Viticultural and Oenological Research Institute**, Stellenbosch, South Africa: v.39, p.24-28, 1989.

MACGOWAN, J. B.; LANGDON, K. R. Host of the rice root-knot nematode *Meloidogyne graminicola*. *fla depot of agric. And consumer serv div plant ind., nematology circular n.172*, 1989.

MAGUNACELAYA, J. C. *Meloidogyne ethiopica* y el cultivo de la vid en Chile. In: _____. Congresso Brasileiro de Nematologia, 25., 2005, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ/USP, 2005. 1 CD-ROM.

MAI, W. F.; BRODIE, B. B.; HARRISON, M. B.; JATALA, P. Nematodos parasitas de papa. In: _____. HOOKER, W. J. (Ed.). **Compendio de enfermedades de la papa**. Lima: CIP, 1980. p.131-141.

MAI, W.F. & MULLIN, P.G. **Plant-parasitic nematodes: a pictorial key to genera**. 1996. 277p.

MALUF, W. R. Resistência a nematoides de galhas *Meloidogyne* spp. em espécies olerícolas. In: _____. **Resistência de plantas a doenças** (ZAMBOLIN, L.; RIBEIRO DO VALE, F. X. Eds.) Fitopatologia Brasileira/Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 30. Palestras p.57-63, 1997.

MAPA, Ministério de Agricultura 2013. Disponível em <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=18888>>, Acesso em 10 Fev. 2013.

MEDINA, Israel Lima. **Dinâmica populacional e caracterização do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) em figueira nos estados do Rio Grande do Sul e de São Paulo**. 2006. 81f. Dissertação (mestrado) - Programa de Pós Graduação em Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MELO, P. C. T.; GRANJA, N. P.; MIRANDA, F. H. S.; SUGAWARA A. C.; OLIVEIRA, R. F. Análise do crescimento da cultivar de batata Agata. **Horticultura Brasileira**, Suplemento v.21, p.323-324, 2003.

MITKOWSKI, N. A.; ABAWI, G. S. Reproductive fitness on lettuce of *Meloidogyne hapla* from New York state vegetable fields. **Nematology**, v.5, p.77-83, 2003.

MONTERO, Z; GARCIA, C; SALAZAR, L.; VALVERDE, R.; GÓMEZ-ALPÍZAR, L. Detección de *Meloidogyne incognita* en tubérculos de papa em Costa Rica. *Agronomia Costarricense, Nota Técnica*, v.31, n.1, p.77-84, 2007.

MOURA, R. M. 1996. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.4, p.209-237, 1996.

MUNIZ, M. F. S.; CAMPOS, V. P.; MOITA, GONÇALVES, W.; ALMEIDA, M. R. A. SOUSA, F. R.; CARNEIRO, R. M. D. G. Reaction of coffee genotypes to different populations of *Meloidogyne* spp.: detection of a naturally virulent *M. exigua* population. **Tropical Plant Pathology**. v.34, p.370-378, 2009.

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, p.897-910, 2008.

NAZARENO, N. R. X.; FILHO, D. S. J. Manejo Integrado de Doenças, In: _____. **Produção Orgânica de Batata**, Capítulo 6. 123-178p. 2009.

NAZARENO, N.X.R.; GOMES, C. B. Doenças. In:_____. Pereira, A.S.. (Org.). **Produção de batata no Rio Grande do Sul** - Sistema de Produção, 19. Pelotas-RS: Embrapa Clima Temperado, 2010, v.1, p.55-68.

NAZARENO, N. R. X.; FILHO, D. S. J. Manejo Integrado de Doenças, In: _____. **Produção Orgânica de Batata**, Capítulo 6. 123-178p. 2009.

NEGRETTI, R. R. D.; GOMES, C. B.; MANICA-BERTO, R.; AGOSTINETTO, D.; SOMAVILLA, L.; MEDINA, I. L.; SCHEUERMANN, K. K. Ocorrência e caracterização de espécies do nematoide Das galhas (*Meloidogyne* spp.) em arroz irrigado no sul do Brasil. In: _____. Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, **Anais**, 7., 2011.

NOWICKI, M.; FOOLAD, M. R.; NOWAKOWSKA, M.; KOZIK, E. U. Potato and tomato late blight caused by *Phytophthora infestans*: An overview of pathology and resistance breeding. **Plant Disease**, v.96, n.1. p.1-17, 2012.

OLIVEIRA, D. S.; OLIVEIRA R. D. L.; SILVA, D. G.; SILVA, R. V. Characterization of *Meloidogyne incognita* populations from São Paulo and Minas Gerais state and their pathogenicity on coffe plants. **Tropical Plant Pathology**, v.36, n.3, p.190-194, 2011.

OLIVEIRA, R. D. L.; SILVA, M. B.; AGUIAR, N. D. C.; BÉRGAMO, F. L. K.; COSTA, A. S. V.; PREZOTTI, L. Nematofauna associada à cultura do quiabo na região leste de Minas Gerais. **Horticultura Brasileira**, v.25, p.88-93, 2007.

OOSTEMBRINK, M. **Major characteristics of the relation between nematodes and plants**. Mendelingen Landbouwhoge School Wageningen, v.6, p.1-46, 1966.

PATEL, D. J.; PATEL, A.; PATEL, H. V. Pathotypes of *Meloidogyne javanica* in India. **Nematologia Mediterranea**, v.21, p.207-208, 1993.

PEREIRA, A. S. Brs. Clara: Cultivar de batata para mercado fresco, com resistência à requeima, folder. Embrapa Clima Temperado 2010, 3p.

PEREIRA, A. S.; DANIELS, J. **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. 2003, 567p.

PEREIRA, J. E. S.; MEDEIROS, C. A. B.; FORTES, G. R. L.; PEREIRA, A. S.; DANIELS, J. Avaliação de dois sistemas hidropônicos na produção de material pré-básico de batata. **Horticultura Brasileira**, v.19, suplemento CD-Rom, 2001. 3.p

PINHEIRO, J. B.; LOPES, C. A. Manejo integrado de nematoides em cultivos de batata In: _____. ZAMBOLIM, L. **Produção integrada da batata**. Volume 2. Viçosa: Universo Agrícola, p.69-94, 2011.

PINHEIRO, J. B.; LOPES, C. A.; HENZ, G. P. Medidas gerais de controle de nematoides de batata. **Circular Técnica**, Brasília, DF. p.9, 2009.

POKHAREL, R. R.; ABAWI, G. S.; ZHANG, N.; DUXBURY, J. M.; SMART, C. D. Characterization of isolated of *Meloidogyne* from rice-wheat production fields in Nepal. **Journal of Nematology**, v.39, n.3, p.221-230, 2007.

PRASAD, K. S. K. Nematodes - distribution, biology and management. **Advances in Horticulture**, New Delhi, v.7, p.635-647, 1993.

RANDING, 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, N. R. **Variabilidade intraespecífica de *Meloidogyne javanica* (Nematoda: *Meloidogyne*) em soja no Brasil**. 2005. 87f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Unesp. Jaboticabal,

SANTOS, J. M. Os nematoides na cultura da batata. Revista batata show. p.8-10, ano3, n.7, 2003.

SANTOS, M. F. A.; FURLANETTO, C.; ALMEIDA, M. R. A.; CARNEIRO, M. D. G.; MOTA, F. C.; MENDES, A. C. M.; SILVEIRA, N. O. R.; SILVA, J. G. 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, n.4, p.671-684, 2012.

SANTOS, G. S.; O'BANNON, J. H.; NYCEZPIR, A. P.; PONTI, R. P. Ecology and control of root-knot nematodes on potato. **Proceedings of the 20th Annual Washington State Potato Commission**, Moses Lake, WA. p 135-139. 1981.

SASSER, J. N.; FRECKMAN, D. W. A world perspective on nematology: the role of the society. In: _____. VEECH, J. A.; DISCKSON, D. W. (eds). **Vistas on Nematology**. Hyattsville: Society of Nematologist, p.7-14, 1987.

SCANDALIOS, J. C. **Genetic control of multiple forms of enzymes in plants**: A review. *Biochemical Genetics*, v.3, p.37-79, 1969.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, p.507-512, 1974.

SCURRAH, M. Manual de manejo de nematodos en campos de papa en el Peru. Proyecto INCODEV "Evaluating new traits for potato in the Central Andes with na appropriate poverty focus". Lima, 73p. 2008.

SCURRAH, M. L.; NIERE, B.; BRIDGE, J. Nematodes Parasites of *Solanum* and Sweet Potatoes. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (eds). **Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**. 2 ed. Oxfordshire: CABI, p. 193-219, 2 ed, 2005.

SHARMA, R. D.; GOMES, A. C. Patogenicidade de *Meloidogyne javanica* no crescimento da lentilha, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27,n.5, p.759-762, 1992.

SILVA, A. R. **Fitonematoides na cultura da batata: Reação de genótipos a *Meloidogyne* spp., distribuição de espécies e caracterização dos sintomas**. 2009. 115f. Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo.

SILVA, A. R.; SANTOS, J. M.; PEDRO, HAYASHI, P. C. R.; HAYASHI, E. Reação de clones e cultivares de batata avaliados em casa de vegetação a *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. mayaguensis* e *in vitro* a *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v.34, n.1, p.48-55, 2010.

SILVA, A. R.; SANTOS, J. M. **Nematoides na cultura da batata no Brasil**. 1ra. Edição, São Paulo, Associação Brasileira da Batata – ABBA, 55p., 2007.

SILVA, G. S.; PEREIRA, A. L.; ARAÚJO, J. .R. G.; CARNEIRO, R. M. D. G. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no Estado do Maranhão. **Nematologia Brasileira**, v.32, n.3, p.242-243, 2008.

SILVA, A. R.; SANTOS, J. M. **Nematoides na cultura da batata no Brasil**. 1ra. Edição, São Paulo, Associação Brasileira da Batata – ABBA, 55p., 2007.

SIRCA, S.; URECK, G.; KARSSSEN, G. First report of the root-knot nematode *Meloidogyne ethiopica* on tomato in Europe. **Plant Disease**, v.88, n.6, p.680, 2004.

SMITHIES, O. Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal human adults. **Biochemistry Journal**, n.61, 629-641p. 1955.

SOMAVILLA, L.. **Levantamento e caracterização do nematoide das galhas em videira nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina e estudo da resistência de porta-enxertos de videira a *Meloidogyne* spp.** 2011. 77f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós Graduação em Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

SOMAVILLA, L.; GOMES, C. B.; QUECINI, V. M. Registro de ocorrência de *Meloidogyne incognita* em videira no estado de Pernambuco e reação de porta-enxertos e cultivares de copa a *Meloidogyne* spp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, p.750-756, 2012.

SOMAVILLA, L.; GOMES, C. B.; CARBONARI, J. J.; CARNEIRO, R. M. D. G. Levantamento e caracterização de espécies do nematoide das galhas em quivi no Rio Grande do Sul, Brasil. **Tropical plant pathology**, v.36, n.2, p.89-94, 2011.

SOMAVILLA, L. **Levantamento e caracterização do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp) em *Actinidia deliciosa* (Chevalier) Liang & Ferguson) no Rio Grande do Sul e reação de *Nicotiana tabacum* L. e espécies frutíferas a *Meloidogyne ethiopica* Whitehead 1968.** 2008. 71f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

STARR, J.L.; COOK, R.; BRIDGE, J. **Plant resistance to parasitic nematodes.** Wallingford: CABI, 2002. 258 p.

STEVENSON, C. L.; LORIA, R.; FRANCO, D. G.; WEINGARTNER, D. P.; 2001. Compendium of potato disease. 2 ed. Americ. Phytopath. Society Press, St. Paul, MN, Estados Unidos. 106p.

SWOFFORD, D. L. PAUP. Phylogenetic analysis using UPGMA (*and other methods) Version 4 b10. Sinauer Associates, Sunderland Massachusetts. 2002.

TAYLOR, L. A.; SASSER, N. J. 1983. **Biología, identificación y control de los nematodos de nódulos de la raíz (especies de *Meloidogyne*).** Proyecto Internacional de *Meloidogyne*. Universidad de Carolina del Norte, Raleigh, Estados Unidos. 1980, 115p.

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

TIGANO, M.; SIQUEIRA, K.; CASTAGNONE-SERENO, P.; MULET, K.; QUEIROZ, P.; SANTOS, M.; TEIXEIRA, C.; ALMEIDA, M.; SILVA, J.; CARNEIRO, R. M. D. G. Genetic diversity of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* and development for SCAR marker for this guava-damaging species. **Plant Pathology**, v.59, p.1054-1061, 2010.

TIHOHOD, D. 1993. Nematologia agrícola aplicada. Jaboticabal, FUNEP. 372p.

- TIHOHOD, D.; FERRAZ, S. Variabilidade de três populações de *Meloidogyne javanica* em plantas de soja. **Nematologia Brasileira**, p.163-171, 1986.
- TOKESHI, H.; BERGAMIN, A. Doenças da batata *Solanum tuberosum* L. In: GALLI, F. **Manual de Fitopatologia**, Doenças das plantas cultivadas, , Ed. Ceres, v. II, 1978, p.102-120.
- TOMASZEWSKI, E. K.; KHALIL, M. A. M.; EI-DEEB, A. A.; POWERS, T. O.; STARR, J. L. *Meloidogyne javanica* parasitic on peanut. **Journal of Nematology**, v.26, n.4, p.436-441, 1994.
- TORDABLE, M. C.; LAX, P.; DOUCET, M. E. Análisis histopatológico en tubérculos de dos genótipos de papa andina (*Solanum tuberosum* subsp. *andigenum*) infectadas por especies del género *Meloidogyne*. **Nematropica**, v. 38, n.1, p.95-103. 2008.
- TROGNITZ, B. R.; ESLAVA, M.; PORTAL, L.; RAMÓN, P. **Resistance to late blight from wild sources**. Lima: CIP, 1997.
- VAN DER BEEK, J.; PIJANACKER, L. J.; Cytology of parthenogenesis of five *Meloidogyne* species. **Fundamental and Applied Nematology**, v.21, p.393-399, 1998.
- VAN DER BEEK, J. G.; POLEIJ, L. M.; ZIJLSTRA, C.; JANSSEN, R.; JANSSEN, G. J. W. Variation in virulence within *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax* and *M. hapla* on *Solanum* spp. **Nematology**, v.88, n.7, p.658-665, 1998.
- VAN GUNDY, S. D. Ecology of *Meloidogyne* spp. Emphasis on environmental factors affecting survival and pathogenicity. In: _____. SASSER, J.N.; CARTER, C.C. **An advanced treatise on Meloidogyne**. Volume I. Biology and control. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985. p.177-182.
- VOVLAS, N.; MIFSUD, D.; LANDA B. B.; CASTILLO P. Pathogenicity of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on potato. **Plant Pathology**, v.54, p. 657-664, 2005.
- WALLACE, S. FAVRIN, R. *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida* Canadian food inspection agency. Disponível em www.cfia-acia.agr.ca/English/ppc/science/pps/datasheets/glorose.shtml acesso em: 1998.
- WHITEHEAD, A. G. 1998, Plant nematode control. WALLINGFORD, UK: CAB INTERNATIONAL.
- WHITEHEAD, A. G. The distribution of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Tropical Africa. **Nematologica**, v.15, p.315-333. 1969.
- WHITEHEAD, A. G. Taxonomy of *Meloidogyne* (Nematodea: Heteroderidae) with description of four new species. **Transactions of the Zoological Society of London**, v.31, p.263-401, 1968.

WINDHAM, G. L.; WILLIAMS, W. P. Penetration and development of *Meloidogyne incognita* in roots of resistant and susceptible corn genotypes. **Journal of Nematology**, v.26, p.80-85, 1994.

XU, K. Comparison of three different esterase phenotype isolates of the kona coffee root-knot nematode, *Meloidogyne konaensis*. University of Hawaii, 60p., 2002.

YU, S. F.; CHEN, Y. F. Discovery of a new esterase phenotype in *Meloidogyne javanica*. **Biodiversity Science**, v.6, n.1, p.27-30, 1998.

ZAMBOLIM, L. **Produção integrada da batata** Volume I. Viçosa, Minas Gerais, Universo Agrícola 438p. 2011.

ZIJLSTRA, C. Identification of *Meloidogyne chitwood*, *M. fallax* and *M. hapla* based on SCAR-PCR: a powerful way of enabling reliable identification of populations or individuals that share common traits. **European Journal of Plant Pathology**, v.106, p.283-290, 2000.

ANEXO 1

Quadro 1 – Áreas de batata coletados nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná; e espécies de *Meloidogyne* e *Pratylenchus*. Pelotas/RS, 2013.

Amostra	Procedência (Municípios)	Variedade	Presença do nematoide das galhas e das lesões
1	São Lourenço/RS	Baronesa	<i>M. javanica</i>
2	São Lourenço/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>
3	São Lourenço/RS	Macaca	<i>M. javanica</i>
4	São Lourenço/RS	Baronesa	<i>M. javanica</i>
5	São Lourenço/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>
6	São Lourenço/RS	Ana	<i>M. javanica</i>
7	São Lourenço/RS	Baronesa	<i>M. javanica</i> , <i>M. arenaria</i>
8	São Lourenço/RS	Baronesa	<i>M. javanica</i>
9	São Lourenço/RS	Ana	<i>M. javanica</i>
10	São Lourenço/RS	Macaca	<i>M. javanica</i>
11	São Lourenço/RS	Asterix	<i>M. javanica</i> J3, <i>M. javanica</i> J2, <i>M. incognita</i>
12	São Lourenço/RS	Baronesa	ND
13	São Lourenço/RS	Ana	ND
14	São Lourenço/RS	Asterix	<i>M. javanica</i> , <i>M. incognita</i>
15	São Lourenço/RS	Agata	<i>M. javanica</i>
16	Ibiraíaras/RS	Asterix	<i>Pratylenchus</i> sp.
17	Ibiraíaras/RS	Atlantic	ND
18	Ibiraíaras/RS	Asterix	<i>M. javanica</i> J3, <i>M. javanica</i> J2, <i>P. brachyurus</i>
19	Ibiraíaras/RS	Asterix	
20	Ibiraíaras/RS	Asterix	<i>M. javanica</i> , <i>M. arenaria</i>

Amostra	Procedência (Municípios)	Variedade	Presença do nematoide das galhas e das lesões
21	Ibiraíaras/RS	Asterix	<i>P. brachyurus</i>
22	Ibiraíaras/RS	Asterix	ND
23	Bom Jesus/RS	Asterix	ND
24	Bom Jesus/RS	Agata	ND
25	Bom Jesus/RS	Asterix e Agata	ND
26	Bom Jesus/RS	Agata	<i>P. brachyurus</i>
27	Bom Jesus/RS	Agata	ND
28	Bom Jesus/RS	Agata	<i>P. brachyurus</i>
29	S. J. dos Ausentes/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>
30	S. J. dos Ausentes/RS	Asterix	ND
31	S. J. dos Ausentes/RS	Agata	ND
32	S. J. dos Ausentes/RS	Asterix	<i>P. brachyurus</i>
33	S. J. dos Ausentes/RS	Asterix	ND
34	S. J. dos Ausentes/RS	Agata	ND
35	S. F. de Paula/RS	Asterix	<i>P. brachyurus</i>
36	S. F. de Paula/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>
37	S. F. de Paula/RS	Agata	ND
38	S. F. de Paula/RS	Agata	<i>Pratylenchus sp.</i>
39	S. F. de Paula/RS	Asterix	ND
40	S. F. de Paula/RS	Asterix e Agata	<i>Pratylenchus sp.</i>
41	Silveira Martins/RS	Asterix	ND

Amostra	Procedência (Municípios)	Variedade	Presença do nematoide das galhas e das lesões
42	Silveira Martins/RS	Asterix	<i>P. brachyurus</i>
43	Silveira Martins/RS	Macaca	<i>M. javanica</i> , <i>P. brachyurus</i>
44	Silveira Martins/RS	Asterix	<i>Pratylenchus</i> sp.
45	Silveira Martins/RS	Agata, Asterix	ND
46	Silveira Martins/RS	Agata	ND
47	Silveira Martins/RS	Asterix, Macaca	<i>M. javanica</i> J3, <i>M.javanica</i> J2a
48	Silveira Martins/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>
49	Canguçu/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>
50	Canguçu/RS	Ana	ND
51	Canguçu/RS	Baronesa	<i>M. javanica</i>
52	Canguçu/RS	Baronesa	<i>M. javanica</i> J3, <i>M.javanica</i> J2
53	Canguçu/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>
54	Nova Petrópolis/RS	Baronesa	<i>P. brachyurus</i>
55	Nova Petrópolis/RS	Baronesa	<i>P. brachyurus</i>
56	Nova Petrópolis/RS	Asterix e Baronesa	<i>M. javanica</i> , <i>P. brachyurus</i>
57	Nova Petrópolis/RS	Baronesa	ND
58	Santa M. do Herbal/RS	Asterix	<i>M. javanica</i>
59	Santa M. do Herbal/RS	Agata	<i>M. javanica</i> , <i>P. brachyurus</i>
60	Santa M. do Herbal/RS	Agata, Macaca e Asterix	<i>M. javanica</i>
61	Santa M. do Herbal/RS	Asterix, Agata e Elisa	ND
62	Morro Reuters/RS	Asterix	ND

Amostra	Procedência (Municípios)	Variedade	Presença do nematoide das galhas e das lesões
63	Morro Reuters/RS	Agata, Baronesa, Macaca	<i>P. brachyurus</i>
64	Gramado/RS	Asterix	<i>M. javanica</i> , <i>P. brachyurus</i>
65	Gramado/RS	Asterix	<i>P. brachyurus</i>
66	Gramado/RS	Macaca e Baronesa	ND
67	Gramado/RS	Baronesa	ND
68	Gramado/RS	Baronesa	ND
69	Gramado/RS	Agata	ND
70	Gramado/RS	Asterix e Baronesa	<i>M. javanica</i>
71	Cristal/RS	Agata	<i>M. javanica</i> , <i>P. brachyurus</i>
72	Cristal/RS	Baronesa	<i>M. javanica</i> J3, <i>M. javanica</i> J2a
73	Cristal/RS	Baronesa	<i>P. brachyurus</i>
74	Cristal/RS	Macaca,	ND
75	Cristal/RS	Ana	<i>M. javanica</i>
76	Água Doce/SC	Agata	<i>M. javanica</i>
77	Major Vieira/SC	Agata	ND
78	Itajaí/SC	Agata	ND
79	Canoinhas/SC	Ana	<i>M. javanica</i>
80	Mafra/SC	Elisa, Ana e Agata	<i>P. brachyurus</i>
81	Major Vieira/SC	Agata	ND
82	Major Vieira/SC	Ana	<i>M. javanica</i>
83	Irineópolis/SC	Agata	<i>M. javanica</i>

Amostra	Procedência (Municípios)	Variedade	Presença do nematoide das galhas e das lesões
84	Irineópolis/SC	Agata	<i>M. javanica</i>
85	Irineópolis/SC	Agata	ND
86	Itaiópolis/SC	Agata e Cupido	<i>M. javanica</i>
87	Itaiópolis/SC	Marquise e Asterix	<i>P. brachyurus</i>
88	Itaiópolis/SC	Ana e Clara	<i>M. javanica</i>
89	Ponte Alta do Sul/SC	Agata e Cupido	ND
90	Três Barras/SC	Agata	ND
91	Três Barras/SC	Agata	ND
92	Contenda/PR	Agata	<i>M. javanica</i>
93	Palmas/PR	Agata	ND
94	Palmas/PR	Agata	ND
95	Pinhão/PR	Agata	<i>P. brachyurus</i>
96	Guarapuava/PR	Agata	ND
97	Ponta Grossa/PR	Agata	ND
98	Ponta Grossa/PR	Agata	ND
99	Castro/PR	Atlantic	ND
100	Castro/PR	Atlantic	<i>M. javanica</i>
101	Castro/PR	Agata	<i>P. brachyurus</i>
102	Castro/PR	Marquis	ND
103	Araucária/PR	Eva, Panda e Cristina	ND
104	Araucária/PR	Agata	<i>M. javanica</i>

Amostra	Procedência (Municípios)	Variedade	Presença do nematoide das galhas e das lesões
105	Araucária/PR	Ana	ND
106	Araucaria/PR	Ana e Asterix	<i>P. brachyurus</i>
107	Araucária/PR	Agata	<i>M. javanica</i> , <i>M. incognita</i>
108	Contenda/PR	Asterix	<i>M. javanica</i>
109	Contenda/PR	Agata	<i>P. brachyurus</i>
110	Contenda/PR	Agata e Caesar	<i>M. ethiopica</i>
111	Lapa/PR	BRSIPR Bel	<i>M. javanica</i>