

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

FRANCIELLE FIORENTIN

**CARACTERIZAÇÃO MORFOMÉTRICA DE POPULAÇÕES DE
*Pratylenchus brachyurus***

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2018

FRANCIELLE FIORENTIN

CARACTERIZAÇÃO MORFOMÉTRICA DE POPULAÇÕES DE
Pratylenchus brachyurus

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Dr. José Renato Stangarlin
Coorientador: Dr. Adilson Ricken Schuelter
Coorientador: Dr. Roberto Luis Portz

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2018

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Fiorentin, Francielle

CARACTERIZAÇÃO MORFOMÉTRICA DE POPULAÇÕES DE *Pratylenchus brachyurus* / Francielle Fiorentin; orientador(a), Dr. José Renato Stangarlin; coorientador(a), Dr. Adilson Ricken; Dr. Roberto Luis Schuelter; Portz, 2018.
52 f.

Tese (doutorado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2018.

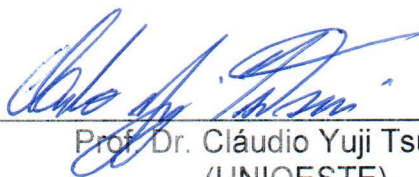
1. Nematóide das lesões. 2. Diversidade. 3. Soja. 4. Milho. I. Stangarlin, Dr. José Renato . II. Schuelter; Portz, Dr. Adilson Ricken; Dr. Roberto Luis . III. Título.

FRANCIELLE FIORENTIN

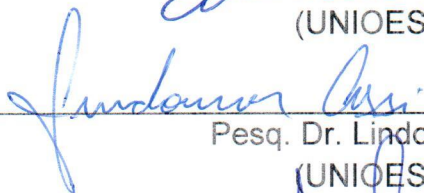
CARACTERIZAÇÃO MORFOMÉTRICA DE POPULAÇÕES DE *Pratylenchus
brachyurus*

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

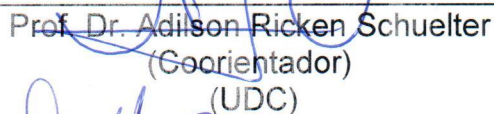
APROVADA: 28 de fevereiro de 2018



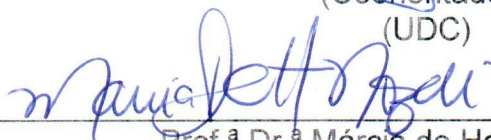
Prof. Dr. Cláudio Yuji Tsutsumi
(UNIOESTE)



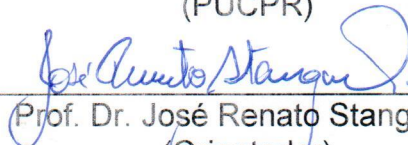
Pesq. Dr. Lindomar Assi
(UNIOESTE)



Prof. Dr. Adilson Ricken Schuelter
(Coorientador)
(UDC)



Prof.ª Dr.ª Márcia de Holanda Nozaki
(PUCPR)



Prof. Dr. José Renato Stangarlin
(Orientador)
(UNIOESTE)

**Ao meu filho
Pietro Gabriel Fiorentin Peters,
meu grande amor!
Desde o início me acompanhando,
primeiro em meu ventre, depois
em meus braços e
hoje ao meu lado!
Eu te amo muito meu filho!
À você dedico este trabalho.**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela vida, Ele que se fez presente em todos os momentos, transmitindo-me segurança necessária para enfrentar os obstáculos e seguir em frente.

Aos meus pais, Waldir e Maria. Meus sinceros agradecimentos e desculpas. Pela falta de tempo, pelos deslizes, mas em especial agradecer pelo amor, incentivo, apoio. Sem vocês, nada disso poderia ter sido concretizado. Aos meus irmãos, Paulo e Marcos, e cunhadas Adriane e Janete, pelo incentivo e pela força.

Ao meu filho, uma das minhas maiores alegrias durante este período. Você foi minha fonte de inspiração que me tem dado forças para continuar a trabalhar para além daquilo que é o normal, o que levou muitas vezes a priva-lo da minha presença. Peço desculpas filho, pelas horas ausentes, mas sei que este esforço terá recompensas futuras para mim e para você. Não me canso de dizer: eu te amo!

Aos professores Dr. José Renato Stangarlin e Dr. Adilson Ricken Schuelter pelo apoio, incentivo, pela orientação maravilhosa, pela força e pela fé. Vocês são pessoas exemplares, que possuem o dom de saber transmitir seus conhecimentos da melhor forma possível, acreditando sempre no potencial de cada um. Meus sinceros agradecimentos pela orientação e pela confiança durante a realização dos trabalhos.

Aos colegas dos Laboratórios de Nematologia e Fitopatologia da UNIOESTE, aos meus alunos e orientados Diego, Bruna e Jaqueline que não mediram esforços quando em momentos pedi a sua ajuda! Obrigada, pelo maravilhoso auxílio para a realização deste trabalho.

A PUCPR *campus* Toledo pelo espaço cedido para as análises e a UNIOESTE pela oportunidade concedida!

Ao meu grande amigo Valdemir Aleixo, agradeço a compreensão, o carinho, o apoio, e em especial a amizade, que nada neste mundo pode valer mais que bons amigos. Você desde o início me incentivou, me escutou e me orientou! Foi um ombro amigo em todas as horas, me escutando sempre que precisei, desde a graduação até o doutorado! Muito obrigado!

Aos colegas de doutorado com quem realizei trabalhos e com os quais convivi durante este tempo.

Aos professores do PPGA, pelos ensinamentos ministrados.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Muito Obrigada!

“Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Se estamos possuídos por uma inabalável determinação, conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho”
(Dalai Lama)

RESUMO

FIORENTIN, Francielle, Dr., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Fevereiro – 2018. **Caracterização morfométrica de populações de *Pratylenchus brachyurus***. Orientador: Dr. José Renato Stangarlin. Coorientadores: Dr. Adilson Ricken Schuelter e Dr. Roberto Luis Portz.

A taxonomia do gênero *Pratylenchus* tem sido objeto de estudo devido à alta variabilidade morfológica intraespecífica. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar morfometricamente populações de *P. brachyurus* provenientes de diferentes localidades e infectando soja e milho. Foram obtidas nove populações de *P. brachyurus* em municípios dos estados do Paraná e Mato Grosso do Sul. Os nematoides foram extraídos pela técnica de flotação centrífuga em solução de sacarose e multiplicados em cilindros de cenoura (10 indivíduos por cilindro). Após 90 dias de multiplicação os nematoides foram extraídos e colocados em lâminas de microscopia para analisar morfometricamente cada população. As variáveis analisadas foram: comprimentos do corpo, do estilete, do esôfago e da cauda e maior largura do corpo. Em seguida, foram determinadas as relações corporais designadas: a (comprimento do corpo dividido pela maior largura), b (comprimento do corpo dividido pelo comprimento do esôfago), c (comprimento do corpo dividido pelo comprimento da cauda) e V% (distância da extremidade anterior à vulva, como porcentagem do comprimento total do corpo). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) com 10 repetições para cada variável mensurada, sendo cada repetição constituída por uma fêmea de nematoide. Foi utilizado um critério de comparação estatística das mensurações das variáveis morfométricas obtidas com as apresentadas por Loof (1991). Foram realizadas análises uni e multivariadas, estimando as médias aritméticas (M), desvios padrão (DP) e coeficientes de variação (CV%). Aplicou-se também o teste de Scott-Knott e foi verificada a diversidade genética das populações empregando-se o método hierárquico do UPGMA e de Otimização de Tocher, a partir das distâncias generalizadas de Mahalanobis. Realizou-se a análise de Variáveis Canônicas com o objetivo de uma melhor visualização da dissimilaridade existente entre as populações de *P. brachyurus*. A caracterização morfométrica indicou grande variabilidade e agrupou as populações em quatro grupos, onde as populações que

apresentaram maior dissimilaridade foram as de Terra Roxa – PR e Toledo 01 – PR, e as que apresentaram menor dissimilaridade foram as de Fátima do Sul 1 – MS e Nova Andradina – MS. As variáveis comprimento do corpo e comprimento do esôfago foram as principais responsáveis pela divergência genética entre as populações de *P. brachyurus*. Houve correlação entre as variáveis comprimento do corpo, largura do corpo, comprimento do esôfago e comprimento da cauda, e a variável comprimento do estilete apresentou correlação com comprimento do corpo, largura do corpo e comprimento do esôfago. A variável V% não apresentou correlação com nenhuma das variáveis analisadas. Recomenda-se que para trabalhos que visem a diversidade genética em populações de *P. brachyurus*, as variáveis comprimento da cauda, “c” e V% não sejam consideradas.

Palavras-chave: Nematóide das lesões. Diversidade. Soja. Milho.

ABSTRACT

FIORENTIN, Francielle, Dr., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, February – 2018. **Morphometric characterization of *Pratylenchus brachyurus* populations.** Advisor: Dr. José Renato Stangarlin. Co-Advisors: Dr. Adilson Ricken Schuelter and Dr. Roberto Luis Portz.

The taxonomy of the genus *Pratylenchus* has been studied due to the high intraspecific morphological variability. The objective of this work was to characterize morphologically the populations of *P. brachyurus* from different places and from soybean and corn host plants. Nine populations of *P. brachyurus* were obtained in the States of Paraná (PR) and Mato Grosso do Sul (MS), Brazil. The nematodes were extracted using the centrifugal flotation technique in a sucrose solution and then multiplied in carrot cylinders (10 individuals per cylinder). After 90 days of multiplication, the nematodes were extracted, and each population was morphometrically analyzed. To analyze each population, the variables were: body length, stylet length, esophagus length, tail length and higher body width. Subsequently, the designated body relations were determined: a (body length divided by the highest width), b (body length divided by esophagus length), c (body length divided by tail length) and V% (distance from the anterior end to vulva, as a percentage of total body length). The experimental design was completely randomized with 10 replicates for each measured variable, each replicate consisting of one female nematode. The morphometric variables measurements were compared to the literature (Loof, 1991) for statistical analysis. Both univariate and multivariate analysis were performed, estimating the arithmetic means (AM), standard deviations (SD) and coefficients of variation (CV%). The Scott-Knott was also performed, and the genetic variation of the populations was verified, using the hierarchical UPGMA and Tocher Optimization methods from the generalized distances of Mahalanobis. The analysis of canonical variables was carried out, aiming a better visualization of the existing dissimilarity among populations of *P. brachyurus*. The morphometric characterization indicated high variability and clustered the populations in four groups, where the populations that presented higher dissimilarity were from Terra Roxa – PR and Toledo 01 – PR, and those that presented lower dissimilarity were from Fátima do Sul 1 – MS and Nova Andradina – MS. The variables of body and esophagus length were the main responsible for the genetic deviation among *P.*

brachyurus populations. There was a correlation between the variables body length, body width, esophagus length and tail length. Besides, the variability of stylet length showed correlation among body length, body width, and esophagus length. The variable V% showed no correlation with any of those ones. For studies which aim the genetic diversity in *P. brachyurus* populations, it is recommended that the variables tail length, c, and V% do not be considered.

Keywords: Root-lesion nematode. Diversity. Soybean. Maize.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - A) Ciclo de vida de *Pratylenchus* spp.; B) Lesões necróticas em raízes de algodoeiro causadas por *Pratylenchus* sp. Fonte: Agrios (2005); Machado et al. (2006).....5
- Figura 2 - Preparação dos cilindros de cenoura em condições assépticas para multiplicação *in vitro* de *Pratylenchus brachyurus*. A) Lavagem das cenouras com detergente e esponja e imersão em hipoclorito de sódio; B) Corte das cenouras em cilindros e flambagem; C) Remoção da parte central da raiz com perfurador; D) Acondicionamento do cilindro em vidro previamente autoclavado e vedação. Fonte: o autor (2018)..... 15
- Figura 3 - Variáveis morfométricas utilizadas nas mensurações das populações de *Pratylenchus brachyurus*. A) Comprimento do corpo; B) Maior largura do corpo; C) Comprimento do estilete; D) Comprimento do esôfago; E) Comprimento da cauda; F) V% (distância da extremidade anterior à vulva, como porcentagem do comprimento total do corpo). Fonte: Decraemer e Hunt (2013)..... 16
- Figura 4 - Dendrograma gerado pelo método UPGMA representando a similaridade das populações de *Pratylenchus brachyurus*. Novo Sobradinho, Toledo – PR, milho (NS); Santa Terezinha de Itaipu – PR, soja (STI); Santa Tereza do Oeste – PR, soja (STO); Terra Roxa – PR, soja (TR); Toledo 01 – PR, milho (T1); Fátima do Sul 01 – MS, milho (FS1); Fátima do Sul 02 – MS, milho (FS2); Nova Andradina – MS, milho (NA); Toledo 02 – PR, milho (T2).....27
- Figura 5 – Dispersão gráfica dos escores em relação às três primeiras variáveis canônicas mais importantes para as populações de *P. brachyurus* analisadas no presente trabalho. 1) Novo Sobradinho, Toledo – PR, milho (NS); 2) Santa Terezinha de Itaipu – PR, soja (STI); 3) Santa Tereza do Oeste – PR, soja (STO); 4) Terra Roxa – PR, soja (TR); 5) Toledo 01 – PR, milho (T1); 6) Fátima do Sul 01 – MS, milho (FS1); 7) Fátima do Sul 02 – MS, milho (FS2); 8) Nova Andradina – MS, milho (NA); 9) Toledo 02 – PR, milho (T2).....30

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Listagem das procedências e hospedeiros das populações de *Pratylenchus brachyurus* utilizadas no presente trabalho. 14
- Tabela 2 – Dados morfométricos de fêmeas de nove populações de *Pratylenchus brachyurus*. Novo Sobradinho, Toledo – PR, milho (NS); Santa Terezinha de Itaipu – PR, soja (STI); Santa Tereza do Oeste – PR, soja (STO); Terra Roxa – PR, soja (TR); Toledo 01 – PR, milho (T1); Fátima do Sul 01 – MS, milho (FS1); Fátima do Sul 02 – MS, milho (FS2); Nova Andradina – MS, milho (NA); Toledo 02 – PR, milho (T2). Todas as mensurações estão em μm e representadas pelas médias \pm desvio padrão, seguidas pelos intervalos obtidos. 19
- Tabela 3 - Agrupamento pelo teste de Scott-Knott das populações de *Pratylenchus brachyurus*. Novo Sobradinho, Toledo – PR, milho (NS); Santa Terezinha de Itaipu – PR, soja (STI); Santa Tereza do Oeste – PR, soja (STO); Terra Roxa – PR, soja (TR); Toledo 01 – PR, milho (T1); Fátima do Sul 01 – MS, milho (FS1); Fátima do Sul 02 – MS, milho (FS2); Nova Andradina – MS, milho (NA); Toledo 02 – PR, milho (T2).22
- Tabela 4 - Correlações genéticas das variáveis morfométricas analisadas nas populações de *Pratylenchus brachyurus*.....24
- Tabela 5 – Medidas de dissimilaridade entre as populações de *Pratylenchus brachyurus* com base nas distâncias generalizadas de Mahalanobis em relação às variáveis morfométricas analisadas.25
- Tabela 6 – Estimativa da contribuição relativa de cada variável morfométrica (S.j) para a divergência genética entre as populações de *Pratylenchus brachyurus* com base na partição do total de D2.....26
- Tabela 7 - Agrupamento pelo método de Tocher das populações de *Pratylenchus brachyurus* com base na dissimilaridade expressa pela distância generalizada de Mahalanobis estimada a partir das variáveis morfométricas.27
- Tabela 8 – Variâncias das variáveis canônicas obtidas a partir variáveis morfométricas mensuradas nas populações de *P. brachyurus* e importância relativa das variáveis analisadas.29

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	NEMATOIDES	3
2.2	GÊNERO <i>Pratylenchus</i> FILIPJEV, 1936.....	4
2.3	POSIÇÃO TAXONÔMICA E NOMENCLATURA	7
2.4	CARACTERES MORFOMÉTRICOS UTILIZADOS PARA IDENTIFICAÇÃO E MULTIPLICAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE <i>Pratylenchus</i>	8
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	17
3.2	OBTENÇÃO DAS POPULAÇÕES DE <i>P. BRACHYURUS</i>	14
3.3	MULTIPLICAÇÃO DE <i>P. brachyurus</i> EM CILINDROS DE CENOURA.....	15
3.4	ANÁLISE MORFOMÉTRICA	16
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
4.1	VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS DAS POPULAÇÕES DE <i>P. brachyurus</i>	18
4.2	AGRUPAMENTO DAS POPULAÇÕES DE <i>P. brachyurus</i> PELO TESTE DE SCOTT-KNOTT	21
4.3	CORRELAÇÃO GENÉTICA ENTRE AS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS ANALISADAS	24
4.4	DISSIMILARIDADE ENTRE AS POPULAÇÕES DE <i>P. brachyurus</i> E IMPORTÂNCIA DAS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS ANALISADAS	25
4.5	AGRUPAMENTOS PELOS MÉTODOS DE TOCHER E UPGMA	26
4.6	DIVERGÊNCIA GENÉTICA PELA ANÁLISE DE VARIÁVEIS CANÔNICAS.....	28
5	CONCLUSÕES.....	32
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

O estudo dos nematoides fitoparasitas é de grande importância para a agricultura, pois estes patógenos podem ocasionar grandes danos às lavouras. O parasitismo reduz a capacidade de absorção de água e nutrientes pela planta, interferindo desta forma no crescimento, reduzindo o número de raízes funcionais, provocando definhamento, aumento do ciclo e redução da produção.

Em países com clima tropical e subtropical os nematoides encontram condições como umidade e temperatura ideais para alimentação e reprodução. Tais fatores são agravantes no controle destes patógenos, os quais após terem se estabelecido em uma área, são de erradicação muito difícil.

Os nematoides das lesões radiculares, representados pelas espécies do gênero *Pratylenchus*, são reconhecidos como um dos principais agentes causadores de perdas agrícolas em culturas de importância, apresentando ampla gama de hospedeiros e distribuição generalizada em várias regiões do Brasil. Este gênero está em segundo lugar em importância entre os nematoides parasitas de plantas, ficando atrás apenas dos nematoides das galhas, representados pelo gênero *Meloidogyne*.

Os nematoides fitoparasitas estão entre os organismos mais difíceis de serem identificados, seja pelo tamanho diminuto ou dificuldade de observação de características-chaves para o diagnóstico em microscopia óptica convencional. Em outros casos, a dificuldade ocorre devido ao alto grau de semelhança entre as espécies mais afins e variabilidade morfológica intraespecífica.

Em relação ao gênero *Pratylenchus*, há dificuldades em relação à descrição taxonômica do grupo. Uma das dificuldades é o grande número de espécies, sendo relatado um total de 104 espécies até o presente momento. As espécies mais frequentes encontradas no Brasil são *P. brachyurus*, *P. zae* e *P. coffea*, encontrando ampla variabilidade morfológica e morfométrica intraespecífica, tornando assim a taxonomia complexa e aumentando a dificuldade para identificação. Outro ponto importante é o pequeno número de caracteres para o diagnóstico em nível de espécie, onde a identificação de rotina em laboratórios acaba se tornando um desafio.

Outro fator é a pequena quantidade de taxonomistas bem treinados no mercado de trabalho, podendo ser citado como uma das causas a falta de interesse

em aprofundamento nesta área de conhecimento. Porém, o uso dos critérios morfológicos e morfométricos para indentificação destes nematoides é uma ferramenta de rotina em laboratórios, de baixo custo e confiável quando feito corretamente, sendo considerado o primeiro passo para o processo de identificação, sendo de vital importância para a prevenção e sucesso nas estratégias de controle adotadas contra este patógeno.

Alguns trabalhos já foram feitos em relação a taxonomia do grupo, porém, há escassez de informações em relação a espécie *P. brachyurus*. Esta espécie está entre as principais encontradas no Brasil e no estado do Paraná, principalmente na região Oeste paranaense, pois a mesma é parasita de dois hospedeiros muito importantes no agronegócio, a soja e o milho, causando assim vários prejuízos em áreas com essas culturas.

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar morfometricamente populações de *P. brachyurus* provenientes de diferentes localidades e infectando soja e milho.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 NEMATOIDES

Os nematoides são organismos geralmente tubulares alongados, que em média medem de 0,1 a 4,0 mm de comprimento. São pseudocelomados, não segmentados, de simetria bilateral, ovíparos, dioicos, com sistema digestivo e reprodutivo completo. Pertencem ao reino animal (Animalia), filo Nemata ou Nematoda (CARES et al., 2007).

São organismos aquáticos que vivem nas águas marinhas, águas doces e película de água do solo. A maioria é de vida livre, alimentando-se de microrganismos, tais como bactérias (bacteriófagos), fungos (micetófagos ou micófagos), algas (algívoros), protozoários (protozoófagos), pequenas minhocas ou oligoquetas (oligoquetófagos), nematóides (nematófagos), animais (carnívoros) e parasitas de plantas superiores (fitoparasitos) (FERRAZ e MONTEIRO, 2011).

Muitos nematoides parasitam plantas superiores, atacando principalmente seus órgãos subterrâneos, como raízes, bulbos, tubérculos e rizomas, e também os órgãos aéreos, como caule, folhas e sementes. Todas as espécies cultivadas são parasitadas por nematoides, porém, devido ao pequeno tamanho deste grupo e em razão de os sintomas causados nas plantas se confundirem com os de deficiência mineral ou de outra origem, estes seres passam despercebidos pelos agricultores (FREITAS et al., 2009). De acordo com Carneiro et al. (2001), os fitonematoides podem inviabilizar o cultivo em áreas infestadas, causando nomadismo de culturas suscetíveis.

A Sociedade Brasileira de Nematologia (SBN) revela que anualmente o agronegócio nacional contabiliza prejuízos de R\$ 35 bilhões, provocados pelos nematoides fitoparasitas (RIVAS, 2015). A grande expansão das áreas cultivadas no país, associada com práticas de rotação de culturas inadequadas ou inexistentes, tem proporcionado aumento na ocorrência de nematoides. Em países com clima tropical e subtropical os nematoides encontram condições como umidade e temperaturas ideais para reprodução e alimentação (TORRES et al., 2009). Rivas (2015) ainda relata que no Brasil os fitonematoides estão em extensa área geográfica.

2.2 GÊNERO *Pratylenchus* FILIPJEV, 1936

O gênero *Pratylenchus* ocupa no Brasil e no mundo o segundo lugar em importância econômica, sendo superado apenas pelos nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) (CASTILLO et al., 2012). Este gênero historicamente sempre mereceu atenção dos nematologistas brasileiros, onde tem sido pesquisado desde a década de 1940 no estado de São Paulo pelos evidentes danos que causava à cultura da batata. Sendo uma espécie polífaga, já foi relatada atacando inúmeras culturas nos últimos 60 anos, incluindo-se hortaliças, fruteiras, florestais e ornamentais (FERRAZ e BROWN, 2016).

O ciclo de vida compreende seis estádios: o ovo, quatro estádios juvenis (J1 a J4) e a forma adulta. Todas as fases de juvenis a adulto são vermiformes, e a partir de J2 podem se mover até as raízes (FERRAZ et al., 2010). As fêmeas no geral depositam os ovos no interior de raízes parasitadas, mas podem liberá-los diretamente no solo, o que é menos comum. Nesse caso, os J2 recém-eclodidos migram à procura de novas raízes para invadi-las e retomar o parasitismo (Figura 1 – A). O número total de ovos por fêmea varia com a espécie, onde em média, tem sido estimado em 70 a 120 (FERRAZ e BROWN, 2016).

Há espécies em que os machos são normais, abundantes, como *Pratylenchus coffea*, porém, em muitas delas estes são raros ou desconhecidos, a exemplo de *P. brachyurus*. A reprodução pode ser anfimítica ou partenogênica, e a duração do ciclo de vida varia com as diferentes espécies em função de fatores do ambiente (temperatura, umidade), indo de três a seis semanas (FERRAZ e MONTEIRO, 2011). Observa-se, ainda, que a textura do solo influencia tanto a distribuição como a densidade populacional dos nematoides, sendo que a maioria das espécies apresenta clara preferência por solos arenosos (FERRAZ e BROWN, 2016).

De acordo com Jones et al. (2013), os espécimes desse gênero são endoparasitas migradores. Os juvenis (J2 a J4) e adultos penetram em raízes e se deslocam ao longo do córtex em direção ao cilindro central. Em seguida, nas camadas mais profundas do córtex, iniciam típico movimento migratório, movendo-se paralelamente ao eixo da raiz. Essa migração pode ser inter e intracelular, envolvendo tal processo tanto ação mecânica quanto enzimática. As células parasitadas usualmente entram em colapso logo após serem abandonadas pelo nematoide, resultando a presença de largas cavidades no córtex quando o ataque é

intenso. As raízes afetadas mostram lesões necróticas de extensão variável e coloração pardo-clara a marrom-avermelhada, onde as espécies deste gênero são referidas como “nematóides das lesões radiculares” (Figura 1 – B).

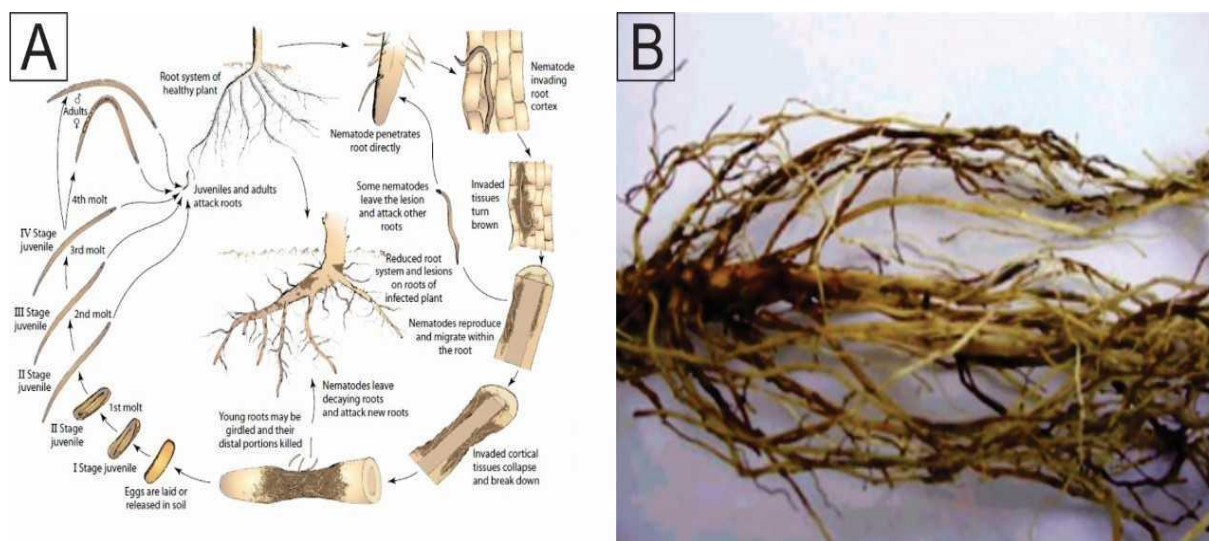


Figura 1 - A) Ciclo de vida de *Pratylenchus* spp.; B) Lesões necróticas em raízes de algodoeiro causadas por *Pratylenchus* sp. Fonte: Agrios (2005); Machado et al. (2006).

Alves (2008) relata que as lesões provocadas pelo parasitismo deste nematoide pode causar a penetração de outros organismos patogênicos, como fungos e bactérias. A interação desses agentes resulta na redução das radículas, e em muitos casos, perda da raiz pivotante. Assim, há redução no volume radicular e morte de numerosas células nas raízes, onde estas se tornarão ineficientes nas funções de absorção e de transporte de nutrientes do solo a outros órgãos da planta.

Em relação a interação com outros patógenos, esta se dá principalmente com fungos habitantes do solo, onde são frequentemente relatadas com fungos causadores de murchas, como dos gêneros *Fusarium* e *Verticillium*. Essas interações são consideradas sinérgicas, ou seja, a associação entre dois patógenos resulta em danos maiores que a soma de cada patógeno isoladamente (GOULART, 2008).

A limitação na absorção e no transporte de água e de nutrientes leva a planta atacada a exibir sintomas reflexos na parte aérea, como nanismo, murcha nas horas mais quentes, clorose e outros indicativos de distúrbios nutricionais, queda na

produtividade, entre outros sintomas. O ataque costuma ocorrer em áreas localizadas, chamadas reboleiras (FERRAZ et al., 2010).

Para sobreviver no solo, estes nematoides necessitam enfrentar e vencer diversas “ameaças”, tais como inimigos naturais (parasitas e predadores), variações de temperatura, de umidade do solo, e morte ou ausência da planta hospedeira. Os principais inimigos naturais de *Pratylenchus* spp. são microrganismos (fungos e bactérias). Fatores edáficos bióticos e abióticos influenciam muito a sobrevivência de espécies de *Pratylenchus* no solo, bem como o desenvolvimento, a reprodução e os danos na cultura hospedeira. Porém, tanto ovos quanto juvenis apresentam mecanismos de sobrevivência, como criobiose (dormência em baixas temperaturas) e anidrobiose (dormência em baixas condições de umidade do solo) (GOULART, 2008).

De acordo com Souza (2016) o controle deste fitonematoide é bastante complexo, assim, a combinação de diferentes medidas de controle favorece o manejo mais eficiente da população do patógeno. O agricultor deve ter a consciência de que a erradicação dos nematoides é praticamente impossível, porém, a adoção de práticas associadas pode reduzir populações do patógeno e danos por ele causados.

Em relação ao controle, este deve ser planejado de modo a integrar vários métodos. Em áreas infestadas, o manejo geral, baseia-se em exclusão (evitar a infestação em áreas isentas), genético (uso de cultivares resistentes), culturais (rotação de culturas com materiais resistentes ou tolerantes), químicos por meio do uso de nematicidas e controle biológico (RIBEIRO et al., 2010).

Ferraz et al. (2010) destacam que a prevenção constitui o princípio mais importante e a melhor defesa para o controle, impedindo a disseminação do patógeno de uma área para outra. Equipamentos agrícolas, como arados, grade e até mesmo colhedoras podem transportar o nematoide nas rodas, discos e em outros componentes. Desta forma, é recomendável quem em áreas naturalmente infestadas sempre sejam as últimas a serem trabalhadas e que, após cada operação agrícola, as máquinas e equipamentos sejam devidamente lavados.

2.3 POSIÇÃO TAXONÔMICA E NOMENCLATURA

De acordo com Siddiqii (2000) o grupo dos nematoides *Pratylenchus* spp. tem a seguinte posição taxonômica:

1. Filo: Nematoda Rudolphi, 1808
2. Classe: Secernentea von Linstow, 1905
3. Subclasse: Tylenchia Inglis, 1983
4. Ordem: Tylenchida Thorne, 1949
5. Subordem: Tylenchina Thorne, 1949
6. Superfamília: Hoplolaimoidea Filipjev, 1934
7. Família: Pratylenchidae Thorne, 1949
8. Subfamília: Pratylenchinae Thorne, 1949
9. Gênero: *Pratylenchus* Filipjev, 1936

O gênero foi alvo de várias revisões, onde até o ano de 2008 era composto por 97 espécies. Porém, com as descrições de *P. araucensis*, *P. floridensis*, *P. parafloridensis*, *P. bispaniensis*, *P. speijeri*, *P. oleae* e *P. parazeae*, o gênero atualmente apresenta 104 espécies (GONZAGA et al., 2016).

Dentre todas as espécies, de acordo com os mesmos autores apenas seis são mais frequentemente encontradas associadas a diferentes culturas no Brasil: *P. brachyurus*, *P. coffea*, *P. jaehni*, *P. penetrans*, *P. vulnus* e *P. zaeae*. As três com maior ocorrência no Brasil são as espécies mais importantes do gênero: *P. brachyurus*, *P. zaeae* e *P. coffea* (GOULART, 2008).

Em relação a espécie *P. brachyurus*, Machado et al. (2007) relatam que o primeiro relato foi nos Estados Unidos na cultura do abacaxi. No Brasil, foi destacada como prejudicial ao milho já no início da década de 1960, sendo depois relatada como parasita de moderada a alta importância para outras gramíneas, e nos últimos anos para soja. Os autores destacam também que outras culturas como sorgo, arroz, cana, fumo, amendoim, batata, pêssego e algodão são bastante prejudicadas, nos quais os danos e perdas por vezes são muito elevados.

No Brasil, esta espécie adquiriu maior destaque em especial nas áreas de produção pelo Sistema Plantio Direto, principalmente para a soja e, em particular, nos últimos 15 anos. O uso continuado, ano após ano, de certas culturas em sucessão à soja como plantio safrinha ou segunda safra, comumente gramíneas e sobretudo o milho, visando ao controle de outras importantes espécies de

nematoides parasitas da soja (*Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines*), acabou proporcionando condições muito favoráveis ao crescimento das populações de *P. brachyurus* no solo, que se estabilizaram em patamares acima do nível de dano e passaram a representar um novo e adicional problema sanitário ao sojicultor (FERRAZ, 2012).

O mesmo autor descreve que em muitas áreas, os danos provocados pelos gêneros *Meloidogyne* e *Heterodera* foram reduzidos, mas como *P. brachyurus* reproduz-se relativamente bem em soja e otimamente em milho, as perdas com esta espécie passaram a aumentar paulatinamente. Desta forma, a espécie *P. brachyurus* destaca-se como uma das que causam os maiores prejuízos no Brasil e em todo o mundo (BELLE et al., 2017).

2.4 CARACTERES MORFOMÉTRICOS UTILIZADOS PARA IDENTIFICAÇÃO E MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE *Pratylenchus*

A variabilidade intra-específica em *Pratylenchus* spp. tem sido apontada como uma das principais dificuldades na taxonomia do grupo. Com efeito, a maioria dos caracteres utilizados para a identificação das espécies é muito variável (OLOWE e CORBETT, 1984). Outro fator, segundo Luc (1987), é o grande número de espécies que torna a taxonomia complexa, e, nos laboratórios de rotina, a dificuldade para identificação das espécies usualmente é tida como um desafio. Ademais, as espécies de *Pratylenchus* são difíceis de identificar devido ao pequeno número de caracteres para o diagnóstico ao nível de espécie.

Com a globalização e o incremento do comércio internacional, a identificação precisa das espécies tornou-se vital, tanto para proteção das áreas agrícolas, impedindo a entrada de novos patógenos, quanto para facilitar a colocação e a manutenção no mercado exterior de produtos agroalimentares e ornamentais produzidos no país (GONZAGA, 2006).

Devido ao alto grau de variação presente nos caracteres morfológicos e morfométricos, Gonzaga et al. (2016) citam que é necessário a análise do maior número possível desses caracteres para uma melhor acurácia na identificação das espécies. Os principais caracteres utilizados para a identificação de *Pratylenchus* são:

1. Comprimento do corpo;
2. Largura da região labial;
3. Altura da região labial;
4. Comprimento do estilete;
5. largura dos nódulos basais do estilete;
6. Altura dos nódulos basais do estilete;
7. Distância da abertura dos ductos da glândula dorsal esofagiana aos nódulos basais do estilete;
8. Maior largura do corpo;
9. Distância da região labial a vulva;
10. Distância da região labial ao poro excretor;
11. Comprimento do esôfago;
12. Comprimento da sobreposição do esôfago ao intestino;
13. Distância da espermateca à vulva;
14. Largura do corpo na vulva;
15. Distância da vulva ao ânus;
16. Comprimento do saco pós-uterino;
17. Largura do corpo na região anal;
18. Comprimento da cauda;
19. Número de anéis na cauda;
20. Largura/altura da região labial;
21. Relação a (comprimento do corpo dividido pela maior largura);
22. Relação b (comprimento do corpo dividido pelo comprimento do esôfago);
23. Relação c (comprimento do corpo dividido pelo comprimento da cauda);
24. Relação c' (comprimento da cauda dividido pela largura do corpo na região anal);
25. Relação V (distância da extremidade anterior a vulva, como porcentagem do comprimento total do corpo).

Neste gênero, empregam-se principalmente os caracteres relativos às fêmeas na identificação das espécies, pois cerca da metade delas apresenta reprodução partenogenética, sendo os machos raros ou ausentes (FERRAZ, 1999).

As fêmeas adultas possuem mais características-diagnósticas do que os machos. Os caracteres normalmente utilizados para a diagnose específica do gênero *Pratylenchus* é a ausência ou a presença de machos, número de anéis pós-

labiais, comprimento do corpo, comprimento do estilete, formas dos bulbos do estilete, comprimento do esôfago, distância da região cefálica à vulva, expressa em termos percentuais do comprimento do corpo e comprimento da cauda. Nas descrições são utilizadas também relações corporais do tipo: valores “a”, “b” e “c” (LIRA, 2013).

A separação taxonômica das espécies é dificultada pelo pequeno número de caracteres diagnósticos e por causa da variabilidade intraespecífica de alguns dos caracteres citados, principalmente quando se confrontam dados de populações de diferentes regiões geográficas. No entanto, por meio de vários desses estudos foi demonstrado que algumas medições, tais como comprimento do estilete e valor V% eram as variáveis taxonômicas menos afetadas por fatores bióticos ou abióticos e provaram ser confiáveis como características-diagnósticas do gênero *Pratylenchus* (CASTILLO e VOVLAS, 2007).

Devido às variações morfológicas e morfométricas entre populações distintas de *Pratylenchus*, torna-se necessário considerável conhecimento em taxonomia para a segura identificação de espécies. Infelizmente, existem atualmente, poucos taxonomistas bem treinados no mercado de trabalho, pois, aparentemente, ocorre falta de interesse entre os estudantes para se aprofundar nesta área de conhecimento, especialmente na taxonomia de invertebrados. Embora exista um declínio contínuo na perícia taxonômica de muitos táxons incluindo-se o Filo Nematoda (COOMANS, 2002), novas oportunidades tecnológicas fundamentadas em técnicas bioquímicas e análises moleculares têm se tornado cada vez mais importantes para a sistemática de nematoides, tornando mais práticos e confiáveis os processos de identificação (LUCA et al., 2004).

Entretanto, o uso de critérios morfológicos e morfométricos vem sendo mantido e deve continuar sendo considerado o primeiro passo para a identificação dos nematoides em geral (MOTA e EISENBACK, 1993). Nguyen (2010) afirma que a identificação correta é de vital importância para a prevenção, controle da disseminação e sucesso nas estratégias de controle destes nematoides.

Alguns trabalhos já foram feitos em relação a morfometria de *Pratylenchus* spp., como Doucet et al. (1996) que, ao estudarem seis populações de *P. vulnus* com diferentes origens e hospedeiros, relataram diferenças significativas intraespecíficas nas variáveis morfométricas analisadas, e relataram que estas

podem ser influenciadas por diferentes fatores como o isolamento geográfico, plantas hospedeiras e temperatura.

Lax et al. (2004), ao analisarem machos e fêmeas da mesma espécie, em diferentes origens, hospedeiros e condições de desenvolvimento, agruparam os mesmos em três grupos de acordo com a variabilidade existente e constataram que a maior variabilidade afeta nas variáveis morfométricas.

Insera et al (2001) também analisaram dados morfométricos das espécies *P. coffea*, *P. jaehni* e *P. loosi* e constataram que entre as variáveis morfométricas há valores que se sobrepõem entre as mesmas, onde estas espécies podem estar relacionadas. O autor sugere que as variáveis morfométricas comprimento do estilete e o valor de V% devem ser utilizados para a distinção entre as espécies.

Para a espécie *P. coffea*, Nguyen (2010) comparou morfometricamente 10 populações no Vietnã com diferentes localidades e hospedeiros, e relata que houve variabilidade nas populações analisadas. Porém, o autor descreve que estas variações são as mesmas já descritas nas populações em outros países. Lira (2013), ao trabalhar com a mesma espécie obtida a partir de tubérculos comerciais de inhame coletados em diferentes municípios do estado do Pernambuco, constatou que todas as populações analisadas apresentaram diferenças para uma ou algumas variáveis morfométricas ao confrontá-las com os dados da literatura descrito por Duncan et al. (1999), o qual descreve as variáveis morfométricas para esta espécie. Porém, a autora descreve que mesmo apresentando estas diferenças, as populações eram similares entre si e que possuíam mais de 70% de similaridade com os dados descritos na literatura.

Gonzaga (2006) caracterizou morfometricamente populações de *P. coffea*, e o autor afirma que as variáveis comprimento do estilete, V%, largura e altura da região labial, número de anéis na cauda e a relação largura/altura da região labial foram as mais significativas para a identificação das espécies.

Outros autores como Torres e Chaves (1999) descreveram morfológicamente e morfometricamente populações de *P. andinus*, *P. crenatus* e *P. oryzae* em Buenos Aires, Argentina. Gonzaga et al. (2016) relataram os caracteres morfológicos e morfométricos utilizados para a identificação de *Pratylenchus*, e os autores descrevem as variáveis morfométricas para identificação de *P. brachyurus*, *P. coffea*, *P. jaehni*, *P. zaeae*, *P. penetrans* e *P. vulnus*, além de elaborarem uma chave para identificação das mais importantes espécies de *Pratylenchus* que ocorrem no Brasil.

Nos estudos envolvendo a taxonomia de *Pratylenchus* spp., a multiplicação de populações *in vitro* é um recurso notavelmente útil. Quando se trata de espécies anfimíticas, a demonstração da incompatibilidade reprodutiva entre populações afins usualmente é feita para se demonstrar que, de fato, essas populações pertencem a espécies diferentes. No processo de multiplicação *in vitro*, a axenização dos nematoides é uma etapa vital para se evitar a contaminação com outros microrganismos (GONZAGA, 2006).

Os primeiros estudos foram realizados por Hastings e Boshier em 1938 para axenização e manutenção de uma espécie de *Pratylenchus* em plântulas de aveia *in vitro*. Porém, foi Krusberg no ano de 1961 quem iniciou os estudos visando ao estabelecimento de culturas axênicas de nematoides em calo de alfafa obtido em meio de cultura relativamente complexo. Utilizando-se dessa técnica, obteve a multiplicação *in vitro* de *P. zaeae*, *Ditylenchus dipsaci* e *Aphelenchoides ritzemabosi*. Após, outros pesquisadores também utilizaram essa técnica, com sucesso, para multiplicação de populações axênicas, tanto de *Pratylenchus* quanto de outros nematoides (ELSEN e DE WAELE, 2004).

Outra alternativa para a multiplicação de nematoides axenicamente é a técnica de discos de cenoura, publicada no final da década de 1960 e, a partir daí, essa técnica vem sendo utilizada para multiplicação *in vitro* de diferentes espécies de *Pratylenchus*, pois esta é mais simples e menos onerosa do que a desenvolvida anteriormente (MUDIOPE et al., 2004). Nesta técnica, os nematoides eram inoculados em discos de cenoura de 2 a 4 mm de espessura, em placas de Petri, contendo ágar-água e antibióticos, o que proporcionava a obtenção de altas populações de nematoides como a espécie *P. brachyurus* (O'BANNON e TAYLOR, 1968).

As melhorias dessa técnica foram introduzidas por Moody et al. (1973), onde os autores aumentaram a espessura dos discos de cenoura para 10 a 15 mm e retiraram o meio de ágar-água, além dos antibióticos, e utilizaram cinco discos por vidro. Com essa alteração da técnica, esses pesquisadores prolongaram o período de multiplicação dos nematoides nos discos para três a quatro meses após a inoculação de *P. vulnus* e obtiveram uma taxa de multiplicação de 1.000 vezes o número de nematoides inoculados. Porém, os discos de cenoura inoculados exauriram-se e secaram no final desse período.

Gonzaga et al. (2006) introduziram modificações nessa técnica e obtiveram sucesso na multiplicação *in vitro* de *Pratylenchus*. Em vez de discos, foram utilizados cilindros de cenoura individuais de, aproximadamente, 30 mm de comprimento por 15 mm de diâmetro, retirados da porção central das raízes, sem adição de qualquer meio, e melhoraram o processo de axenização.

Mais recentemente, populações axênicas de espécies de *Pratylenchus* obtidas por essa técnica, inclusive, foram utilizadas em estudos moleculares, confirmando a pureza biológica dessas populações (DE LUCA et al., 2004). Desta forma, Gonzaga (2006) afirma que a multiplicação *in vitro* de *Pratylenchus*, em cilindros de cenoura, é uma técnica de fácil execução, baixo custo e adequada à produção massiva desses nematoides, tanto para produção de inóculo como para análises envolvendo a taxonomia deste gênero.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DAS POPULAÇÕES DE *P. brachyurus*

Para a obtenção das populações, foram coletadas raízes de milho e soja, parasitadas por nematoides, em nove locais dos estados do Paraná e Mato Grosso do Sul (Tabela 1).

Tabela 1 – Listagem das procedências e hospedeiros das populações de *Pratylenchus brachyurus* utilizadas no presente trabalho.

Procedência	Hospedeiro
Novo Sobradinho, Toledo – PR (NS)	Milho
Santa Terezinha de Itaipu – PR (STI)	Soja
Santa Tereza do Oeste – PR (STO)	Soja
Terra Roxa – PR (TR)	Soja
Toledo 01 – PR (T1)	Milho
Fátima do Sul 01 – MS (FS1)	Milho
Fátima do Sul 02 – MS (FS2)	Milho
Nova Andradina – MS (NA)	Milho
Toledo 02 – PR (T2)	Milho

Foi realizada a extração dos nematoides pela técnica de Coolen e D' Herde (1972), onde as raízes das plantas infectadas foram seccionadas em pedaços de aproximadamente 1 cm de comprimento e trituradas com água em liquidificador por aproximadamente 30 segundos. A suspensão obtida foi passada em duas peneiras de 20 e 400 mesh sobrepostas e o conteúdo recolhido em um béquer e transferido para tubetes para centrifugação por 5 min a 2.000 rpm (1263 g). Após esta centrifugação, foi descartado o sobrenadante e adicionado solução de sacarose nos tubetes (densidade = 1,15 g cm⁻³) e, em seguida, nova centrifugação durante 1 min a 2.000 rpm (1263 g). O sobrenadante que continha os nematoides foi passado em peneira de 400 mesh e recolhido em béquer, obtendo assim, a suspensão de nematoides utilizados para a montagem temporária de lâminas de vidro, seguida das identificações morfológicas para identificação específica com base no exame microscópico em comparação com características morfológicas observadas

descritas na literatura. Foram selecionados os indivíduos identificados como sendo da espécie *P. brachyurus*.

3.2 MULTIPLICAÇÃO DE *P. brachyurus* EM CILINDROS DE CENOURA

Após a extração, os nematoides foram multiplicados em cilindros de cenoura, a fim de verificar as características morfométricas das populações coletadas. Para a multiplicação, foram preparados cilindros de cenouras e colocados em vidros devidamente autoclavados. Para preparação dos cilindros seguiu-se a metodologia descrita por Moody et al. (1973) modificado por Gonzaga et al. (2006), onde cenouras após lavagem com detergente e esponja, foram imersas em hipoclorito de sódio a 0,5% por 30 min. Em seguida, em câmara de fluxo laminar, foram cortadas com bisturi em cilindros de 30 mm de comprimento e aproximadamente 15 mm de diâmetro, os quais foram mergulhados em álcool etílico comercial 96% e flambados. Com auxílio de um perfurador de inox, também flambado, foram retirados os cilindros centrais e colocados em posição vertical nos vidros, sendo vedados com papel alumínio e papel filme (Figura 2). Os cilindros permaneceram em repouso por cinco dias e, não havendo evidências de contaminação fúngica ou bacteriana, foram inoculados com os nematoides axenizados.

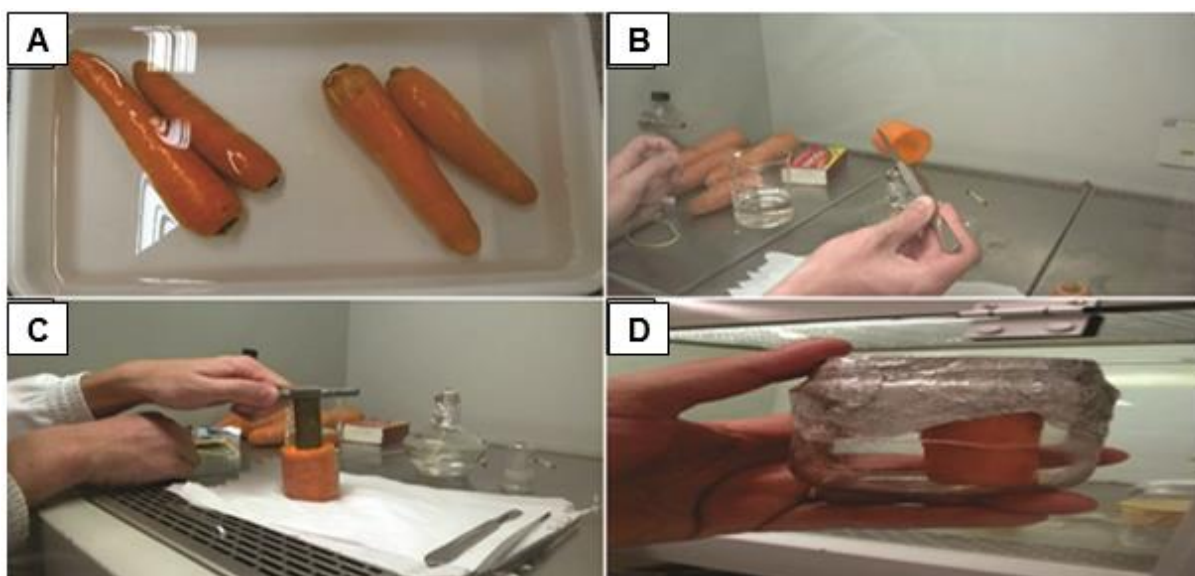


Figura 2 - Preparação dos cilindros de cenoura em condições assépticas para multiplicação *in vitro* de *Pratylenchus brachyurus*. A) Lavagem das cenouras com detergente e esponja e imersão em hipoclorito de sódio; B) Corte das cenouras em cilindros e flambagem; C) Remoção da parte central da raiz com perfurador; D) Acondicionamento do cilindro em vidro previamente autoclavado e vedação. Fonte: o autor (2018).

Para axenização dos nematoides foi utilizada a técnica descrita por Mountain (1955), onde estes foram transferidos para vidros tipo BPI contendo 600 μL de solução de ampicilina 0,1%, permanecendo 10 min em repouso nessa solução. Em seguida, o excesso de antibiótico foi removido e acrescentado novamente 200 μL da solução do antibiótico, deixando em repouso por mais 10 min. Os procedimentos foram repetidos por mais duas vezes, onde na última operação foi acrescentado somente 100 μL da solução com o antibiótico. A partir desta suspensão foram inoculadas 20 fêmeas em condições assépticas, em câmara de fluxo laminar, no topo dos cilindros de cenoura. Após a inoculação, os cilindros foram mantidos a 25 °C em incubadora e escuro por 90 dias.

3.3 ANÁLISE MORFOMÉTRICA

Após os 90 dias, os nematoides foram extraídos dos cilindros de cenoura pela técnica Coolen e D' Herde (1972) e utilizados no preparo de montagens temporárias em lâminas de vidro a fim de se analisar morfometricamente cada população.

As variáveis morfométricas utilizadas para mensurações foram: comprimento do corpo, maior largura do corpo, comprimento do estilete, comprimento do esôfago e comprimento da cauda. Em seguida, foram determinadas as relações corporais designadas: a (comprimento do corpo dividido pela maior largura), b (comprimento do corpo dividido pelo comprimento do esôfago), c (comprimento do corpo dividido pelo comprimento da cauda) e V% (distância da extremidade anterior à vulva, como porcentagem do comprimento total do corpo) (Figura 3).

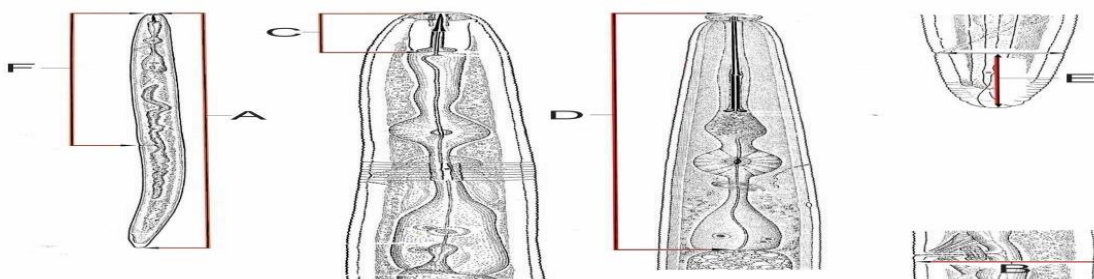


Figura 3 - Variáveis morfométricas utilizadas nas mensurações das populações de *Pratylenchus Brachyurus*. A) Comprimento do corpo; B) Maior largura do corpo; C) Comprimento do estilete; D) Comprimento do esôfago; E) Comprimento da cauda; F) V% (distância da extremidade anterior à vulva, como porcentagem do comprimento total do corpo). Fonte: Decraemer e Hunt (2013).

As lâminas das populações foram identificadas e as espécimes examinadas e documentadas em um sistema de aquisição de imagens digitais constituído por câmera digital montada sobre microscópio acoplada a microcomputador. Foram feitas mensurações apenas das fêmeas, utilizando-se dez espécimes por população.

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) com 10 repetições para cada variável mensurada, sendo cada repetição constituída por uma fêmea de nematoide. Como critério de comparação estatística das mensurações das variáveis morfométricas obtidas com as apresentadas por Loof (1991), considerou-se que, no caso em que o intervalo obtido das mensurações realizadas se enquadrasse na descrita pelo autor, ambas passavam a ser equivalentes e, portanto, enquadradas na mesma espécie e grupo de *P. brachyurus*.

Os dados obtidos no experimento foram empregados para realização das análises uni e multivariadas, empregando-se o Aplicativo Computacional GENES/UFV (CRUZ, 1997). Inicialmente realizou-se as análises de variância e foram estimadas as médias aritméticas (M), desvios padrão (DP) e coeficientes de variação (CV%). Na sequência, aplicou-se o teste de Scott-Knott para avaliar o agrupamento das diferentes populações de *P. brachyurus* e avaliar os coeficientes de correlação entre as variáveis morfométricas analisadas.

A diversidade genética entre as populações de *P. brachyurus* foi estudada empregando-se o método hierárquico do UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*) e de Otimização de Tocher, a partir das distâncias generalizadas de Mahalanobis. Além disso, com o intuito de melhor visualização da dissimilaridade existente entre as populações de *P. brachyurus* realizou-se a análise de Variáveis Canônicas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS DAS POPULAÇÕES DE *P. brachyurus*

A morfometria das fêmeas das nove populações de *P. brachyurus* é apresentada na Tabela 2. O comprimento do corpo, considerando todas as nove populações analisadas variou de 252,1 a 915,6 μm (CV: 13,38%). A largura do corpo apresentou amplitude de 13,9 a 55,1 μm (CV: 20,62%). O comprimento do estilete variou de 12,3 a 24,7 μm (CV: 8,19%) e o esôfago de 83,5 a 212,3 μm (CV: 19,61%). Em relação ao comprimento da cauda, esta obteve uma variação de 21,5 a 95,5 (CV: 25,18%). No que concerne às relações corporais, o valor de “a” esteve entre 11,9 a 33,2 μm (CV: 13,87%), o valor de “b” entre 2,6 a 8,0 μm (CV: 17,06%), o valor de “c” entre 6,0 a 23,1 μm (CV: 21,96%) e V% esteve entre 72,3 a 93,1% (CV: 4,77%).

Ao confrontar os dados morfométricos das nove populações analisadas com os descritos por Loof (1991), verificou-se que em todas as populações estudadas havia diferenças entre as variáveis, onde estas não se enquadravam no intervalo descrito pelo autor. Na população de Novo Sobradinho, Toledo – PR (NS), as variáveis que se enquadravam com os dados apresentados por Loof (1991) foram comprimento do corpo e a variável “a”. Na população de Santa Teresinha de Itaipu – PR (STI), as variáveis comprimento do estilete e variáveis “b” e “c” tiveram seus valores dentro dos descritos pelo autor.

As populações de Santa Tereza do Oeste – PR (STO) e Fátima do Sul 2 – MS (FS2) tiveram somente o comprimento do corpo se enquadrando entre os valores. Para a população de Terra Roxa – PR (TR) nenhuma das variáveis analisadas se enquadraram com os valores descritos, e para a população de Toledo 01 – PR (T1), somente o valor de “c” ficou entre os valores descritos por Loof (1991). A população de Fátima do Sul 1 – MS (FS1) também teve somente uma variável se enquadrando nos valores descritos pelo autor, sendo a variável “a”. A população de Nova Andradina – MS (NA) teve as variáveis comprimento do corpo, estilete e “a” como as que se enquadraram nos valores descritos pelo autor citado, e a população de Toledo 02 – PR (T2) teve somente o valor de “a” se enquadrando no sistema descrito pelo autor.

Tabela 2 – Dados morfométricos de fêmeas de nove populações de *Pratylenchus brachyurus*. Novo Sobradinho, Toledo – PR, milho (NS); Santa Terezinha de Itaipu – PR, soja (STI); Santa Tereza do Oeste – PR, soja (STO); Terra Roxa – PR, soja (TR); Toledo 01 – PR, milho (T1); Fátima do Sul 01 – MS, milho (FS1); Fátima do Sul 02 – MS, milho (FS2); Nova Andradina – MS, milho (NA); Toledo 02 – PR, milho (T2). Todas as mensurações estão em μm e representadas pelas médias \pm desvio padrão, seguidas pelos intervalos obtidos.

Populações	Comprimento do corpo	Largura do corpo	Comprimento do estilete	Comprimento do esôfago	Comprimento da cauda	a	b	c	V%
NS	614,3 \pm 101,1	33,0 \pm 6,2	17,9 \pm 1,7	96,1 \pm 11,7	45,4 \pm 10,4	18,5 \pm 1,9	6,2 \pm 0,9	12,4 \pm 1,9	82,6 \pm 3,7
	390,59 – 712,1	23,6 – 41,0	15,5 – 19,3	83,5 – 114,4	36,2 – 64,0	15,7 – 20,8	4,5 – 7,9	10,8 – 14,8	77,2 – 86,3
STI	769,6 \pm 61,1	27,2 \pm 1,8	20,5 \pm 0,6	131,5 \pm 16,5	43,3 \pm 5,3	28,4 \pm 2,9	5,9 \pm 0,8	17,9 \pm 2,2	81,6 \pm 3,6
	636,5 – 838,5	24,2 – 30,6	19,6 – 21,6	112,5 – 167,2	38,8 – 52,1	23,7 – 33,2	4,9 – 6,8	13,5 – 20,9	75,9 – 86,8
STO	636,9 \pm 44,3	38,5 \pm 4,8	22,4 \pm 1,3	143,3 \pm 24,0	50,7 \pm 12,3	16,8 \pm 2,5	4,5 \pm 0,8	13,2 \pm 3,3	80,8 \pm 3,6
	574,6 – 702,1	29,9 – 45,6	20,4 – 24,7	117,5 – 184,8	35,7 – 68,8	13,9 – 21,2	3,1 – 5,5	8,6 – 17,5	73,7 – 85,7
TR	311,7 \pm 86,9	17,7 \pm 5,4	17,0 \pm 2,1	102,4 \pm 21,7	37,2 \pm 15,0	17,7 \pm 1,9	3,0 \pm 0,3	8,9 \pm 2,1	84,1 \pm 4,9
	252,1 – 532,9	13,9 – 32,7	15,2 – 21,9	84,6 – 152,9	21,5 – 74,3	14,9 – 21,2	2,6 – 3,7	6,0 – 12,1	77,9 – 93,1
T1	827,6 \pm 50,3	31,0 \pm 4,9	22,1 \pm 0,8	164,7 \pm 30,4	47,8 \pm 8,9	27,1 \pm 3,4	5,2 \pm 1,2	17,9 \pm 3,3	80,4 \pm 4,1
	773,6 – 915,6	26,0 – 43,3	20,3 – 23,4	114,4 – 198,5	33,7 – 66,5	21,1 – 32,0	4,1 – 8,0	12,1 – 23,1	74,1 – 88,1
FS1	540,4 \pm 92,7	30,7 \pm 5,5	20,8 \pm 1,8	140,7 \pm 23,8	47,6 \pm 10,7	17,7 \pm 2,5	3,9 \pm 0,5	11,9 \pm 3,5	84,8 \pm 3,1
	346,9 – 663,2	20,7 – 37,7	18,3 – 24,4	104,4 – 196,6	31,3 – 63,7	15,2 – 23,9	3,2 – 4,5	6,0 – 18,1	79,1 – 89,8
FS2	619,9 \pm 72,4	40,5 \pm 10,3	20,1 \pm 1,8	155,7 \pm 33,5	54,2 \pm 14,9	15,9 \pm 3,1	4,1 \pm 0,8	12,0 \pm 2,9	81,2 \pm 5,4
	478,8 – 719,4	24,2 – 55,1	16,9 – 22,9	115,1 – 202,0	35,6 – 78,1	11,9 – 22,5	2,8 – 5,3	8,4 – 17,8	72,3 – 91,6
NA	604,3 \pm 77,1	31,1 \pm 5,0	20,7 \pm 0,8	147,9 \pm 20,8	50,5 \pm 11,9	19,7 \pm 3,1	4,1 \pm 0,4	12,5 \pm 3,0	85,9 \pm 2,8
	479,2 – 727,8	23,8 – 38,1	19,2 – 21,7	110,9 – 188,2	36,5 – 69,7	15,3 – 24,3	3,6 – 4,6	8,4 – 17,5	80,5 – 89,5
T2	623,5 \pm 123,6	34,7 \pm 10,0	18,5 \pm 2,6	147,9 \pm 44,6	68,6 \pm 18,7	18,7 \pm 3,3	4,4 \pm 0,8	9,5 \pm 2,7	84,2 \pm 3,6
	389,6 – 783,9	15,6 – 51,8	12,3 – 21,3	94,7 – 212,3	46,3 – 95,5	15,1 – 25,0	3,3 – 5,9	6,4 – 14,8	79,0 – 90,9
CV %	13,38	20,62	8,19	19,61	25,18	13,87	17,06	21,96	4,77
LOOF (1991)	390 – 750	-	17 - 22	-	-	15 - 30	4,6 – 9,3	12 - 28	82 - 89

Entre todas as variáveis analisadas e comparadas com as descritas pelo autor, somente a variável V% não obteve valores compatíveis em nenhuma das populações analisadas.

Em relação às variáveis largura do corpo, comprimento do esôfago e comprimento da cauda, estas não foram comparadas com o descrito por Loof (1991), devido ao fato de que este autor não descreve valores para comparação com os obtidos neste estudo.

Segundo Lira et al. (2014), a taxonomia do gênero *Pratylenchus* tem sido asserção de um significativo número de publicações, devido à alta variabilidade genética e morfométrica quando comparadas diferentes populações, e estas variações podem ser consideradas normais quando ocorrentes em indivíduos do gênero. No presente estudo, ao confrontar os dados obtidos com Loof (1991), 55% das populações analisadas apresentaram diferenças em relação ao comprimento do corpo, 78% diferença em relação ao comprimento do estilete e 100% em relação à distância da extremidade anterior à vulva, expressa em porcentagem.

De acordo com Nguyen (2010), o comprimento do corpo pode ter alta variabilidade, e pode ocorrer variação entre indivíduos extraídos de diferentes espécies vegetais (LOOF, 1991). O comprimento do corpo é em geral maior em espécimes extraídos de raízes de plantas parasitadas, como neste estudo, do que em exemplares coletados do solo.

Em relação ao comprimento do estilete, este gênero apresenta estomatoestilete curto, com comprimento variando entre 11 a 25 μm (FERRAZ, 1999). Embora algumas populações analisadas não se enquadrassem nos dados apresentados por Loof (1991), quando comparadas ao citado por Ferraz (1999), todas se enquadram nos valores descritos pelo autor, e ao observar as médias das populações analisadas, somente as populações de Santa Tereza do Oeste – PR, (STO) e Toledo 01 – PR (T1) não se enquadram nos valores, porém, pode-se observar que os valores estão próximos dos descritos por Loof (1991). Destaca-se também que de acordo com o coeficiente de variação apresentado neste trabalho (8,19%), houve uniformidade nos dados descritos.

Para o valor de V%, quando observada a média das populações, cinco destas (Novo Sobradinho, Toledo – PR (NS), Terra Roxa – PR (TR), Fátima do Sul 1 – MS (FS1), Nova Andradina – MS (NA) e Toledo 02 – PR (T1)) se enquadram nos valores

descritos por Loof (1991), diferente de quando se observam os intervalos obtidos. Ao serem observadas as populações que não tiveram a média se enquadrando nos valores descritos pelo autor, nota-se que os valores foram muito próximo aos descritos pelo mesmo.

Outro fator relevante é que estes valores foram uniformes, apresentando coeficiente de variação de 4,77%. Dados semelhantes foram encontrados por Lira et al. (2014), que ao analisarem 10 populações de *P. coffea* constataram coeficiente de variação de 3,7% para esta variável, e também com Nguyen (2010), que relata um coeficiente de variação de 3,1% nesta variável ao estudar 10 populações da mesma espécie no Vietnã.

Café Filho e Huang (1988) realizaram um levantamento de *Pratylenchus* spp. no Brasil e constataram que entre os parâmetros morfométricos analisados, os mais estáveis foram a posição da vulva e o comprimento do estilete. Desta forma, o comprimento do estilete e o valor de $V\%$, por se apresentarem estáveis tanto neste trabalho como em outros já relatados, devem ser considerados como básicos na taxonomia de *P. brachyurus*.

4.2 AGRUPAMENTO DAS POPULAÇÕES DE *P. brachyurus* PELO TESTE DE SCOTT-KNOTT

Na Tabela 3 estão apresentados os dados referentes ao agrupamento das populações em relação às variáveis morfométricas analisadas. Na variável comprimento do corpo, verifica-se que as populações foram agrupadas da seguinte maneira: Toledo 01 – PR (T1) e Santa Teresinha de Itaipu – PR (STI) ficaram no mesmo grupo; as populações Santa Tereza do Oeste – PR (STO), Toledo 02 – PR (T2), Fátima do Sul 2 – MS (FS2), Novo Sobradinho, Toledo – PR (NS), Nova Andradina – MS (NA) e Fátima do Sul 1 – MS (FS1) em um segundo grupo e Terra Roxa – PR (TR) em um terceiro grupo.

Em relação ao primeiro grupo, estas apresentaram os maiores valores, e quando observado o hospedeiro, a população de Toledo 01 – PR (T1) foi isolada de milho e a população de Santa Teresinha de Itaipu – PR (STI) foi isolada de soja.

Tabela 3 - Agrupamento pelo teste de Scott-Knott das populações de *Pratylenchus brachyurus*. Novo Sobradinho, Toledo – PR, milho (NS); Santa Teresinha de Itaipu – PR, soja (STI); Santa Tereza do Oeste – PR, soja (STO); Terra Roxa – PR, soja (TR); Toledo 01 – PR, milho (T1); Fátima do Sul 01 – MS, milho (FS1); Fátima do Sul 02 – MS, milho (FS2); Nova Andradina – MS, milho (NA); Toledo 02 – PR, milho (T2).

Populações	CC	LC	CE	CEs	CCa	a	b	c	V%
NS	614,3 b	33,0 b	17,9 c	96,1 b	45,4 b	18,5 b	6,2 a	12,4 b	82,6 b
STI	769,6 a	27,2 b	20,5 b	131,5 a	43,3 b	28,4 a	5,9 a	17,9 a	81,6 b
STO	636,9 b	38,5 a	22,4 a	143,3 a	50,7 b	16,8 b	4,5 c	13,2 b	80,8 b
TR	311,7 c	17,7 c	17,0 c	102,4 b	37,2 b	17,7 b	3,0 d	8,9 c	84,1 a
T1	827,6 a	31,0 b	22,1 a	164,7 a	47,8 b	27,1 a	5,2 b	17,9 a	80,4 b
FS1	540,4 b	30,7 b	20,8 b	140,7 a	47,6 b	17,7 b	3,9 c	11,9 b	84,8 a
FS2	619,9 b	40,5 a	20,1 b	155,7 a	54,2 b	15,9 b	4,1 c	12,0 b	81,2 b
NA	604,3 b	31,1 b	20,7 b	147,9 a	50,5 b	19,7 b	4,1 c	12,5 b	85,9 a
T2	623,5 b	34,7 b	18,5 c	147,9 a	68,6 a	18,7 b	4,4 c	9,5 c	84,2 a

CC: comprimento do corpo; LC: largura do corpo; CE: comprimento do estilete; CEs: comprimento do esôfago; CCa: comprimento da cauda; a= comprimento do corpo dividido pela maior largura; b= comprimento do corpo dividido pelo comprimento do esôfago; c= comprimento do corpo dividido pelo comprimento da cauda; V%= distância da extremidade anterior à vulva, como porcentagem do comprimento total do corpo. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade.

Várias culturas são parasitadas por *P. brachyurus*, recebendo destaque milho e soja (FERRAZ, 2006), culturas que se comportam como suscetíveis a este nematoide, o que, de acordo com Olowe e Corbett (1984), o comprimento do corpo é maior quando se encontra em uma planta hospedeira mais suscetível. Porém, a população de Terra Roxa – PR (TR) apresentou o menor valor em relação ao comprimento do corpo e foi alocada no terceiro grupo, onde o hospedeiro desta população foi soja, assim como a população de Santa Teresinha de Itaipu – PR (STI), que se encontra no primeiro grupo. Ao verificar os valores desta população, a mesma apresenta um valor menor em relação à população de Toledo 01 – PR (T1) com o hospedeiro milho. Desta forma, pode-se concluir que há variações em relação ao comprimento do corpo, porém, as análises revelaram que o comprimento do corpo de nematoides da espécie *P. brachyurus* foi maior quando este foi isolado de um hospedeiro suscetível, como plantas de milho.

Ao se observar a largura do corpo, as populações que apresentaram os maiores valores em relação ao comprimento não apresentaram a maior largura (Toledo 01 – PR (T1) e Santa Teresinha de Itaipu – PR (STI)), e as populações que obtiveram os maiores valores foram de Santa Tereza do Oeste – PR (STO) e Fátima

do Sul 2 – MS (FS2), ambas também sendo de hospedeiros diferentes. A população de Fátima do Sul 2 – MS (FS2) teve como hospedeiro milho, e assim como o comprimento do corpo obteve um valor maior para esta variável quando comparada a Santa Tereza do Oeste – PR (STO), que tem como hospedeiro soja.

Em relação ao comprimento do estilete, as populações Toledo 01 – PR (T1) e Santa Tereza do Oeste – PR (STO) se enquadraram em um grupo apresentando os maiores valores para esta variável, novamente com hospedeiros diferentes.

A população Terra Roxa – PR (TR) obteve o menor valor nas três variáveis, ou seja, comprimento do corpo, largura do corpo e comprimento do estilete. Ferraz (1999) relata que tanto a forma dos bulbos basais do estilete quanto o seu comprimento apresentam variações intraespecíficas muito comuns. Doucet et al. (1996) afirmam que há também um grande número de variações quando analisadas as variáveis morfométricas entre diferentes populações, e os autores sugerem que estas variações podem ser influenciadas pelas plantas hospedeiras, isolamento geográfico e também pela temperatura.

Para comprimento do esôfago, as populações de Novo Sobradinho, Toledo – PR (NS) e Terra Roxa – PR (TR) apresentaram valores inferiores em relação as demais populações, sendo enquadradas em um grupo diferente. Na variável comprimento da cauda, somente a população Toledo 02 – PR (T2) se apresentou diferente das demais, sendo enquadrada em grupo a parte.

Para a variável V%, as populações de Terra Roxa – PR (TR), Fátima do Sul 1 – MS (FS1), Nova Andradina – MS (NA) e Toledo 02 – PR (T2) se enquadraram em um grupo com os maiores valores em relação às demais populações. Observa-se que, mesmo a população de Terra Roxa – PR (TR) apresentando os menores valores para as variáveis comprimento do corpo, largura do corpo e comprimento do estilete, esta ficou agrupada com as populações que apresentam os maiores valores em relação a variável V%.

Verifica-se pelos agrupamentos acima apresentados que há grande variabilidade intraespecífica em relação às características morfométricas nas populações analisadas, e destaca-se que vários fatores podem influenciar nestas diferenças.

4.3 CORRELAÇÃO GENÉTICA ENTRE AS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS ANALISADAS

As correlações genéticas entre as variáveis morfométricas analisadas estão apresentadas na Tabela 4. Verifica-se que em relação às variáveis comprimento do corpo, largura do corpo, comprimento do esôfago e comprimento da cauda, com exceção da variável V%, todas as demais apresentaram interação. Na variável comprimento do estilete, não houve interação com comprimento da cauda e V%.

Tabela 4 - Correlações genéticas das variáveis morfométricas analisadas nas populações de *Pratylenchus brachyurus*.

Variáveis Morfométricas	LC	CE	CEs	CCa	V%
CC	0,47*	0,69*	0,62*	0,29*	-0,72
LC		0,50*	0,55*	0,75*	-0,49
CE			0,79*	0,03	-0,50
CEs				0,51*	-0,15
CCa					0,10

CC: comprimento do corpo; LC: largura do corpo; CE: comprimento do estilete; CEs: comprimento do esôfago; CCa: comprimento da cauda; V% = distância da extremidade anterior à vulva, como porcentagem do comprimento total do corpo. *Significativo ao nível de 1% pelo método de Bootstrap com 1000 simulações.

Pode-se observar que para todas as variáveis que apresentaram interação entre si houve grau de relacionamento positivo entre as mesmas, indicando que uma variável tem influência positiva sobre a outra. A principal causa da correlação genética é o pleiotropismo, que é a propriedade na qual um gene afeta duas ou mais características, onde valores positivos indicam que os dois caracteres podem sofrer alterações pelas mesmas causas ambientais (CRUZ e REGAZZI, 1994).

Conforme Callegari-Jacques (2003), o valor do coeficiente entre 0,60 e 0,90 indica forte correlação linear. Assim, entre as variáveis morfométricas comprimento do corpo relacionada com comprimento do estilete e comprimento do esôfago, largura do corpo relacionada com comprimento da cauda, e comprimento do estilete relacionado com o comprimento do esôfago, de acordo com os valores apresentados, tem forte correlação linear entre si.

As variáveis morfométricas designadas como “a”, “b” e “c” não foram apresentadas, pois as mesmas são relações corporais que dependem de valores de outras variáveis, apresentando assim correlação entre tais características.

4.4 DISSIMILARIDADE ENTRE AS POPULAÇÕES DE *P. brachyurus* E IMPORTÂNCIA DAS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS ANALISADAS

De acordo com as estimativas das distâncias generalizadas de Mahalanobis (D^2) as populações que apresentaram maior dissimilaridade foram Terra Roxa – PR (TR) e Toledo 01 – PR (T1), com $D^2 = 53,7$. As que apresentaram menor dissimilaridade foram Fátima do Sul 1 – MS (FS1) e Nova Andradina – MS (NA) com $D^2 = 1,6$ (Tabela 5).

Tabela 5 – Medidas de dissimilaridade entre as populações de *Pratylenchus brachyurus* com base nas distâncias generalizadas de Mahalanobis em relação às variáveis morfométricas analisadas.

Populações	STI	STO	TR	T1	FS1	FS2	NA	T2
NS	34,6	18,6	33,1	47,1	20,9	14,2	21,9	13,9
STI		24,5	50,2	4,8	29,2	27,4	20,5	23,6
STO			20,3	26,1	4,3	4,3	5,7	11,0
TR				53,7	9,0	20,2	13,5	20,2
T1					29,6	32,7	19,7	27,8
FS1						7,5	1,6	9,3
FS2							8,4	6,4
NA								7,2

Novo Sobradinho, Toledo – PR, milho (NS); Santa Terezinha de Itaipu – PR, soja (STI); Santa Tereza do Oeste – PR, soja (STO); Terra Roxa – PR, (soja) (TR); Toledo 01 – PR, (milho) (T1); Fátima do Sul 01 – MS, milho (FS1); Fátima do Sul 02 – MS, milho (FS2); Nova Andradina – MS, milho (NA); Toledo 02 – PR, milho (T2).

Verifica-se que as populações que apresentaram a maior dissimilaridade tem hospedeiros diferentes, sendo soja para Terra Roxa – PR (TR) e milho para Toledo 01 – PR (T1), além de tipos de solos diferentes, sendo LATOSSOLO Vermelho Distrófico e LATOSSOLO Vermelho Eutroférico, respectivamente (SANTOS et al., 2013). Em relação às populações que apresentaram a menor dissimilaridade, ambas foram coletadas do mesmo tipo de solo (PLANOSSOLO Hidromórfico) (SANTOS et al. 2013) e tem como hospedeiro milho. Desta forma, pode concluir-se que as

populações que apresentam o mesmo hospedeiro e tipo de solo apresentam maior similaridade entre si.

Na Tabela 6 é possível verificar a contribuição relativa de cada variável morfométrica analisada entre as populações, de acordo com a estatística S.j proposta por Singh (1981).

Tabela 6 – Estimativa da contribuição relativa de cada variável morfométrica (S.j) para a divergência genética entre as populações de *Pratylenchus brachyurus* com base na partição do total de D².

Variáveis Morfométricas	S.j	Percentual
Comprimento do Corpo	257,94	25,17
Maior Largura do Corpo	139,79	13,64
Comprimento do Estilete	58,76	5,73
Comprimento do Esôfago	150,76	14,71
Comprimento da Cauda	44,14	4,30
a	146,04	14,25
b	146,56	14,30
c	56,58	5,52
V%	24,01	2,34

a= comprimento do corpo dividido pela maior largura; b= comprimento do corpo dividido pelo comprimento do esôfago; c= comprimento do corpo dividido pelo comprimento da cauda; V% = distância da extremidade anterior à vulva, como porcentagem do comprimento total do corpo.

Observa-se que as variáveis comprimento do corpo e comprimento do esôfago foram as principais responsáveis pela divergência genética entre as nove populações de *P. brachyurus*, contribuindo com 39,88%. A variável largura do corpo teve uma contribuição de 13,64%. As variáveis ‘a’ e ‘b’ apresentaram uma contribuição de 28,55%, onde estas estão relacionadas com as variáveis acima mencionadas (comprimento do corpo, largura do corpo e comprimento do esôfago).

As variáveis comprimento do estilete, ‘c’ e comprimento da cauda tiveram uma contribuição de 15,55%, e a variável V% apresentou apenas 2,34% de contribuição.

4.5 AGRUPAMENTOS PELOS MÉTODOS DE TOCHER E UPGMA

Pelo método de agrupamento de Tocher (original), as nove populações foram divididas em quatro grupos. O grupo I reuniu cinco populações, sendo Fátima do Sul 1 – MS (FS1), Nova Andradina – MS (NA), Santa Tereza do Oeste – PR (STO),

Fátima do Sul 2 – MS (FS2) e Toledo 02 – PR (T2); o grupo II reuniu duas populações correspondendo a Santa Teresinha de Itaipu – PR (STI) e Toledo 01 – PR (T1); e os grupos III e IV com apenas uma população cada, sendo Novo Sobradinho, Toledo – PR (NS) e Terra Roxa – PR (TR), respectivamente (Tabela 7).

Tabela 7 - Agrupamento pelo método de Tocher das populações de *Pratylenchus brachyurus* com base na dissimilaridade expressa pela distância generalizada de Mahalanobis estimada a partir das variáveis morfométricas.

Grupos	Populações				
I	Fátima do Sul 1 – MS	Nova Andradina – MS	Santa Tereza do Oeste – PR	Fátima do Sul 2 – MS	Toledo 02 – PR
II	Santa Teresinha de Itaipu – PR	Toledo 01 - PR			
III	Novo Sobradinho, Toledo – PR				
IV	Terra Roxa – PR				

Utilizando o método da ligação média entre grupos (UPGMA), também foram originados quatro grupos, onde as populações de cada grupo foram as mesmas obtidas pelo agrupamento de Tocher (original) (Figura 4).

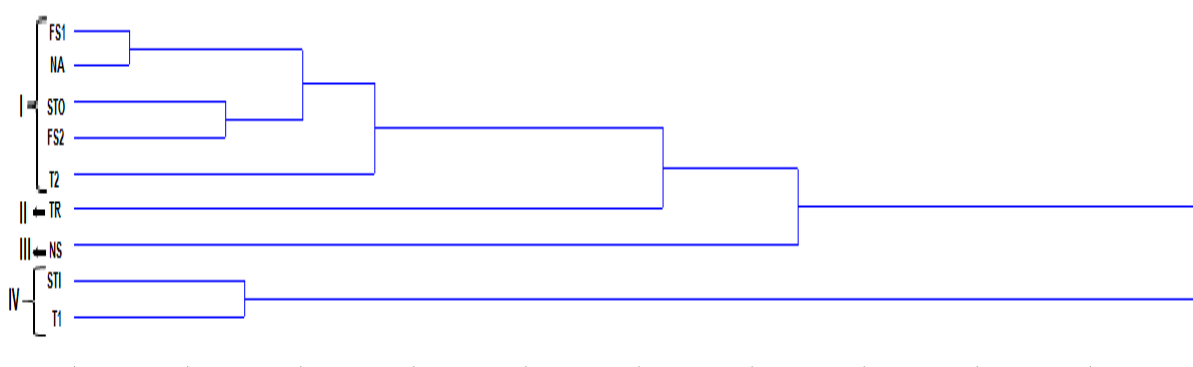


Figura 4 - Dendrograma gerado pelo método UPGMA representando a similaridade das populações de *Pratylenchus brachyurus*. Novo Sobradinho, Toledo – PR, milho (NS); Santa Teresinha de Itaipu – PR, soja (STI); Santa Tereza do Oeste – PR, soja (STO); Terra Roxa – PR, soja (TR); Toledo 01 – PR, milho (T1); Fátima do Sul 01 – MS, milho (FS1); Fátima do Sul 02 – MS, milho (FS2); Nova Andradina – MS, milho (NA); Toledo 02 – PR, milho (T2).

Bertan et al. (2006) constataram fato semelhante ao estudarem métodos de agrupamento para representar a distância morfológica entre acessos de trigo. Os autores verificaram que o método UPGMA e Tocher (original) apresentaram resultados similares na representação dos genótipos mais divergentes.

De acordo com os dados apresentados anteriormente em relação à dissimilaridade de acordo com as estimativas das distâncias generalizadas de Mahalanobis, observa-se que as populações que apresentaram maior dissimilaridade estão em grupos diferentes (Terra Roxa – PR (TR) e Toledo 01 – PR (T1)), e as que apresentaram menor dissimilaridade estão no mesmo grupo (Fátima do Sul 1 – MS (FS1) e Nova Andradina – MS (NA)). Em relação aos hospedeiros, o grupo em que estas populações estão incluídas é predominante milho, onde somente a população de Santa Tereza do Oeste – PR (STO) teve como hospedeiro soja. Desta forma, pode-se concluir que a maior similaridade entre as populações de *P. brachyurus* ocorre quando estas possuem o mesmo hospedeiro.

4.6 DIVERGÊNCIA GENÉTICA PELA ANÁLISE DE VARIÁVEIS CANÔNICAS

Em relação aos resultados obtidos quando se utiliza a técnica de variáveis canônicas, na Tabela 8 são apresentados os valores das estimativas das variâncias (autovalores), variância acumulada e dos coeficientes de ponderação associados (autovetores).

Observa-se que com a utilização das variáveis VC_1 , VC_2 e VC_3 foi possível explicar 88,01% da variabilidade entre as populações, sendo 53,86% relativo a VC_1 , 24,13% a VC_2 e 10,02% a VC_3 . A importância relativa de cada variável canônica é também dada pela razão entre a variância por ela explicada e o total da variância disponível. Uma vez que há nas primeiras variáveis a concentração de grande proporção da variância total, em geral referenciada como acima de 80%, é viável o estudo da divergência genética por meio de distâncias geométricas em gráficos de dispersão, cujas coordenadas são escores relativos às primeiras variáveis canônicas (CRUZ e REGAZZI, 1994).

Tabela 8 – Variâncias das variáveis canônicas obtidas a partir variáveis morfométricas mensuradas nas populações de *P. brachyurus* e importância relativa das variáveis analisadas.

Variável canônica	Variância (Autovalor)	Variável acumulada(%)	Coeficiente de ponderação associado a:								
			CC	LC	CE	CEs	CCa	a	b	c	V%
VC ₁	5,41	53,86	0,67	-0,62	-0,16	0,53	-0,15	0,15	-0,28	0,09	-0,15
VC ₂	2,42	77,99	0,35	0,14	-0,43	-0,43	0,09	0,11	0,64	0,01	-0,26
VC ₃	1,01	88,01	0,51	0,66	0,51	0,09	-0,02	0,15	-0,09	0,02	-0,09
VC ₄	0,61	94,09	-0,17	-0,22	0,54	-0,45	-0,55	-0,05	0,23	-0,20	-0,16
VC ₅	0,38	97,88	-0,32	0,13	-0,19	-0,05	-0,19	0,69	-0,29	0,12	-0,46
VC ₆	0,11	98,99	-0,01	-0,12	0,17	-0,02	-0,00	0,56	0,29	0,35	0,65
VC ₇	0,09	99,92	-0,11	-0,12	0,31	-0,44	0,57	-0,12	-0,15	0,52	-0,23
VC ₈	0,01	100	-0,09	-0,08	0,11	0,58	-0,19	-0,15	0,43	0,51	-0,35
VC ₉	0,00	100	-0,07	-0,25	0,29	0,28	0,52	0,32	0,27	-0,53	-0,22

CC: comprimento do corpo; LC: largura do corpo; CE: comprimento do estilete; CEs: comprimento do esôfago; CCa: comprimento da cauda; a= comprimento do corpo dividido pela maior largura; b= comprimento do corpo dividido pelo comprimento do esôfago; c= comprimento do corpo dividido pelo comprimento da cauda; V%= distância da extremidade anterior à vulva, como porcentagem do comprimento total do corpo.

De acordo com Shimoya et al. (2010), a análise das variáveis canônicas permite o descarte daquelas características que contribuíram pouco para a variabilidade genética, onde são descartadas aquelas características que apresentaram o maior coeficiente de ponderação nas variáveis canônicas menos importantes. Cruz e Regazzi (1994) relatam que neste tipo de análise consideram-se de menor importância aqueles caracteres que são relativamente invariantes ou que apresentaram redundância, ou seja, estão representados por outros caracteres, cuja correlação é elevada. Quando avaliados em conjunto, na análise multivariada, tais diferenças individuais se tornam redundantes, uma vez que esses caracteres estão representados indiretamente por outros (RIBEIRO et al., 1999).

A variável morfológica comprimento do esôfago e a variável “c” apresentaram, respectivamente, os maiores coeficientes de ponderação na oitava e nona variáveis canônicas apresentadas, onde desta forma são as características que contribuíram menos para a variabilidade genética. De acordo com os resultados já apresentados pela estatística S.j proposta por Singh (1981), a variável comprimento do esôfago apresentou 14,71% de contribuição pela variabilidade genética e “c” 5,52%, ficando

atrás das variáveis comprimento da cauda com 4,30% e V%, que apresentou apenas 2,34% de contribuição.

Desta forma, recomenda-se o descarte das características comprimento da cauda, “c” e V% em futuros trabalhos que visem a análise da variabilidade genética entre populações de *P. brachyurus*. Em relação a variável “c”, nota-se que a mesma está relacionada com o comprimento da cauda, pelo fato de ser uma relação corporal designada pelo comprimento do corpo dividido pelo comprimento da cauda.

De acordo com o gráfico de dispersão (Figura 5), observou-se a formação de quatro grupos entre as populações analisadas, onde os grupos são formados pelas mesmas populações já relatadas neste trabalho de acordo com o agrupamento de Tocher (original) e método da ligação média entre grupos (UPGMA).

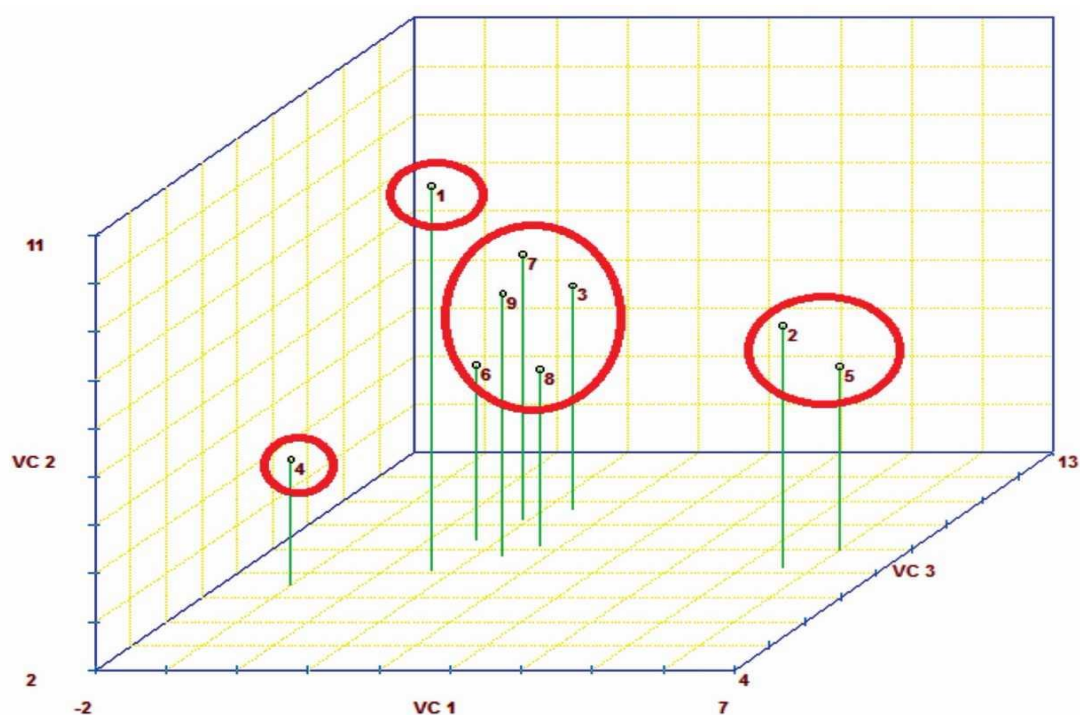


Figura 5 – Dispersão gráfica dos escores em relação às três primeiras variáveis canônicas mais importantes para as populações de *P. brachyurus* analisadas no presente trabalho. 1) Novo Sobradinho, Toledo – PR, milho (NS); 2) Santa Terezinha de Itaipu –PR, soja (ST1); 3) Santa Tereza do Oeste – PR, soja (STO); 4) Terra Roxa – PR, soja (TR); 5) Toledo 01 – PR, milho (T1); 6) Fátima do Sul 01 – MS, milho (FS1); 7) Fátima do Sul 02 – MS, milho (FS2); 8) Nova Andradina – MS, milho (NA); 9) Toledo 02 – PR, milho (T2).

A dispersão gráfica dos escores apresentados na Figura 5 pode ser utilizada para interpretação da divergência genética entre as populações (RIBEIRO et al. 1998). Assim, pode-se identificar como menos divergentes entre si as populações de

Fátima do Sul 1 – MS (FS1), Nova Andradina – MS (NA), Santa Tereza do Oeste – PR (STO), Fátima do Sul 2 – MS (FS2) e Toledo 02 – PR (T2), e como mais divergente a população de Terra Roxa – PR (TR), principalmente em relação a Toledo 01 – PR (T1). De acordo com as estimativas das distâncias generalizadas de Mahalanobis (D^2), as populações de Fátima do Sul 1 – MS (FS1) e Nova Andradina – MS (NA) que se encontram no mesmo grupo apresentaram a menor dissimilaridade (menos divergentes) e as populações de Terra Roxa – PR (TR) e Toledo 01 – PR (T1) apresentaram a maior dissimilaridade (mais divergentes).

5 CONCLUSÕES

Pelos dados obtidos no presente trabalho pode-se concluir:

- 1) Há grande variabilidade intraespecífica em relação às características morfométricas nas populações de *P. brachyurus* analisadas, e vários fatores podem influenciar nestas diferenças, em destaque hospedeiros e isolamento geográfico.
- 2) As variáveis morfométricas comprimento do corpo, largura do corpo, comprimento do esôfago e comprimento da cauda apresentaram correlação genética positiva com as variáveis analisadas, com exceção da variável V%. A variável comprimento do estilete não apresentou correlação com as variáveis comprimento da cauda e V%.
- 3) As populações que apresentaram maior dissimilaridade foram as de Terra Roxa – PR e Toledo 01 – PR, e as que apresentaram menor dissimilaridade foram as de Fátima do Sul 1 – MS e Nova Andradina – MS. Em relação à contribuição relativa das variáveis analisadas, comprimento do corpo e comprimento do esôfago foram as principais responsáveis pela divergência genética entre as populações de *P. brachyurus*.
- 4) As populações foram agrupadas em quatro grupos, sendo Fátima do Sul 1 – MS, Nova Andradina – MS, Santa Tereza do Oeste – PR, Fátima do Sul 2 – MS e Toledo 02 – PR no grupo I; grupo II com as populações de Santa Teresinha de Itaipu – PR e Toledo 01 – PR; grupo III com Novo Sobradinho, Toledo – PR; e grupo IV com Terra Roxa – PR.
- 5) Recomenda-se que variáveis comprimento da cauda, “c” e V% não sejam consideradas em futuros trabalhos que visem a análise da variabilidade genética.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 5 ed, Burlington: Elsevier Academic Press, 952p., 2005.

ALVES, T.C.U. **Reação de cultivares de soja aos nematoides das lesões radiculares *Pratylenchus brachyurus***. Dissertação de mestrado (mestrado em agricultura tropical) Universidade Federal de Mato Grosso, 36p, 2008.

BELLE, C.; KUHN, P.R.; KASPARY, T.E.; SCHMITT, J. Reação de cultivares de soja a *Pratylenchus brachyurus*. **Revista Agrarian**, v. 10, n. 36, p. 136-140, 2017.

BERTAN, I.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C.; VIEIRA, E.A.; HARTWING, I.; SILVA, J.A.G.; SHIMIDT, D.A.M.; VALÉRIO, I.P.; BUSATO, C.C.; RIBEIRO, G. Comparação de métodos de agrupamento na representação da distância morfológica entre genótipos de trigo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 12, n. 13, p. 279-286, 2006.

CAFÉ FILHO, C.; HUANG, C.S. Nematoides do gênero *Pratylenchus* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 13, p. 232-235, 1998.

CALLEGARI-JACQUES, S.M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Porto Alegre: Artmed, 264 p., 2003.

CARES, J.E.; BLUM, L.E.B.; ANDRADE, E.P. Nematologia vegetal: uma introdução. In: BLUM, L.E.B.; CARES, J.E.; UESUGI, C.H. **Fitopatologia o estudo das doenças de plantas**. 1 ed, Brasília: Otimismo, cap. 11, p. 128-166, 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**, v. 25, n.2, p. 223-228, 2001.

CASTILLO, P.; STANLEY, J.; INSERA, R.N.; MANZANILLA-LOPEZ, R.H. *Pratylenchidae* – the lesion nematodes. In: MANZANILLA-LOPEZ, R.H.; MARBAN-MENDOZA, N. **Practical plant nematology**. Montecillo: Colégio de postgraduados, p. 411-478, 2012.

CASTILLO, P.; VOVLAS N. *Pratylenchus* (Nematoda, Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management. **Nematology Monographs and Perspectives**, v. 6, 529 p., 2007.

COOLEN, W.A.; D'HERDE, C.J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. **State Agricultural Research Centre – GHENT**, Belgium, 77p., 1972.

COOMANS, A. Present status and future of nematode systematics. **Nematology**, v. 4, p. 573-582, 2002.

CRUZ, C.D. **Programa GENES - Aplicativo Computacional em Genética e Estatística**. Editora: UFV, Viçosa, MG. 442 p., 1997.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 390 p., 1994.

DE LUCA, F.; FANELLI, E.; Di VITO, M.; REYES, A.; DE GIORGI, C. Comparison of the sequences of the D3 expansion of the 26S ribosomal genes reveals different degrees of heterogeneity in different populations and species of *Pratylenchus* from the Mediterranean region. **European Journal of Plant Pathology, Wageningen**, v. 110, n. 9, p. 949-957, 2004.

DECRAEMER, W.; HUNT, D.J. Structure and classification. In: ROLAND, N.; MOENS, M. **Plant Nematology**. V.1, 2 ed., CAB international, cap. 1, p. 38, 2013.

DOUCET, M.; PINOCHET, J.; DI RIENZO, J. A. Comparative analysis of morphological and morphometrical characters in six isolates of *Pratylenchus vulnus* Allen & Jensen, 1951 (Nemata: Tylenchida). **Fundamental Applied Nematology**, v. 19, n. 1, p. 79-84, 1996.

DUNCAN, L.W.; INSERRA, R.N.; THOMAS, W.K.; DUNN, D.; MUSTIKA, I.L.M.; FRISSE, M.; MENDES, L.; MORRIS, K.; KAPLAN, D.T. Molecular and morphological analyses of isolates of *Pratylenchus coffeae* and closely related species. **Nematropica**, v. 29, p. 61-80, 1999.

ELSEN, A.; de WAELE, D. Recent developments in early in vitro screening for resistance against migratory endoparasitic nematodes. In: JAIN, S. M.; SWENNEN, R. **Banana improvement: cellular, molecular biology, and induced mutations**. Enfield: Science Publishers, p. 194-208, 2004.

FERRAZ L. C.C.B. O nematoide *Pratylenchus brachyurus* e soja sob plantio direto. **Revista Plantio Direto**, v. 96, p. 411-417, 2006.

FERRAZ, L.C.C.B. Gênero *Pratylenchus* – o nematoide das lesões radiculares. In: **Revisão anual de Patologia de plantas**, v.7. Passo Fundo: gráfica e editora Berthier, p. 157-195, 1999.

FERRAZ, L.C.C.B. **Produtor deve evitar hospedeiros de *Pratylenchus brachyurus***. 2012. Disponível em: <http://nematologia.com.br/wp-content/uploads/2012/07/lcvisa9.pdf>. Acesso em 30/01/2018.

FERRAZ, L.C.C.B.; BROWN, D.J.F. **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma editora, cap. 8, p. 151-165, 2016.

FERRAZ, L.C.C.B.; MONTEIRO, A.R. Nematoides. In: AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**, v.1, 4 ed, São Paulo: Ceres, cap. 13, p. 277-302, 2011.

FERRAZ, S.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A.; DIAS-ARIEIRA, C.R. **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa: UFV, 306p., 2010.

FREITAS, L.G.; OLIVEIRA, R.D.L.; FERRAZ, S. **Introdução a Nematologia**. Viçosa: Editora UFV, p. 7, 2009.

GONZAGA, V. **Caracterização morfológica, morfométrica e multiplicação in vitro das seis espécies mais comuns de *Pratylenchus filipjev*, 1936 que ocorrem no Brasil**. Tese de doutorado (doutorado em produção vegetal) Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 94p., 2006.

GONZAGA, V.; SANTOS, J.M.; COSTA, M.A.F. Multiplicação de *Pratylenchus* spp. *in vitro* em cilindros de cenoura. In: **Congresso brasileiro de fitopatologia**, 39, Salvador. Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, v. 31, Suplemento, p. 208, 2006.

GONZAGA, V.; SANTOS, J.M.; MENDONÇA, R.S.; SANTOS, M.A. Gênero *Pratylenchus*. In: OLIVEIRA, C.M.G.; SANTOS, M.A.; CASTRO, L.H.S. **Diagnose de fitonematoides**. V.1, 1 ed., Editora: Millenium, cap. 4, p. 71-93, 2016.

GOULART, A.M.C. **Aspectos gerais sobre nematóides das lesões radiculares (gênero *Pratylenchus*)**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 10-20, 2008.

INSERRA, R.N.; DUNCAN, L.W.; TROCCOLI, A.; DUNN, D.; SANTOS, J.M.; VOVLAS, N. *Pratylenchus jaehni* sp. n. from citrus in Brazil and its relationship with *P. coffeae* and *P. loosi* (Nematoda: Pratylenchidae). **Nematology**, Leiden, v. 3, n. 7, p. 653-665, 2001.

JONES, J.T.; H, HAEGEMAN, E.G.J; DANCHIN, H.S.; GAUR, J.; HELDER, M.G.K.; KIKUCHI, R.; MANZANILLA-LOPES, J.E.; PALOMARES-RIUS, W.M.L.; PERRY, R.N. Top ten plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 14, p. 946-961, 2013.

LAX, P.; DOUCET, M.; DI RIENZO, J.A.; PINOCHET, J.; BAUJARD, P. Inter-population variability in *Pratylenchus vulnus* Allen & Jensen, 1951 (Nematoda: Tylenchida). **Nematology**, v. 6, n. 2, p. 257-260, 2004.

LIRA, V.L.; ROSA, J.M.O.; OLIVEIRA, S.A.; OLIVEIRA, C.M.G.; MOURA, R.M. Análises morfométrica e molecular de isolados de *Pratylenchus coffeae* ocorrentes no estado de Pernambuco, Brasil, em inhame. **Nematropica**, v. 44, p. 152-165, 2014.

LIRA, V.L. **Caracterização morfométrica e molecular de populações de *Pratylenchus coffeae* e reações de leguminosas e gramíneas ao parasitismo**. Dissertação de mestrado (mestrado em saúde humana e meio ambiente). Universidade Federal de Pernambuco, 52 p., 2013.

LOOF, P. A. A. The Family Pratylenchidae Thorne. 1949. In: NICKLE, W.R. **Manual of agricultural nematology**. New York: Marcel Dekker, p. 363-241, 1991.

LUC, M. A reappraisal of Tylenchina (Nemata). The family Pratylenchidae Thorne, 1949. **Reveu de Nematologie**, Paris, v. 10, n.2, p. 203-218, 1987.

LUCA, F.; FANELLI, E.; DI VITO, M.; REYES, A.; GIORGI, C. Comparison of the sequences of the D3 expansion of the 26S ribosomal genes reveals different degrees of heterogeneity in different populations and species of *Pratylenchus* from the Mediterranean region. **European Journal of Plant Pathology**, v. 110, p. 949- 957, 2004.

MACHADO, A.C.Z.; BELUTI, D.B.; SILVA, R.A.; SERRANO, M.A.S.; INOMOTO, M.M. Avaliação de danos causados por *Pratylenchus brachyurus* em algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 11-16, 2006.

MACHADO, A.C.Z.; FERRAZ, L.C.C.B.; OLIVEIRA, C.M.G. Development of species-specific reverse primer for the molecular diagnosis of *Pratylenchus brachyurus*. **Nematropica**, v. 37, p. 249-257, 2007.

MOODY, E.H.; LOWNSBERY, B.F.; AHMED, J.M. Culture of the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* on carrot disks. **Journal of Nematology**, v. 5, n. 3, p. 225-226, 1973.

MOTA, M.M.; EISENBACK, J.D. Morphometrics of *Globodera tabacum tabacum*, *G. t. virginiae*, and *G. t. solanacearum* (Nemata: Heteroderinae) **Journal of Nematology**, v. 25, p.148-160, 1993.

MOUNTAIN, W.B. A method of culturing plant parasitic nematodes under sterile conditions. **Proceeding of the Helminthological Society of Washington**, v. 22, n.1, p. 49-52, 1955.

MUDIOPE, J.; COYNE, D.; ADIPALA, W.; SIKORA, R.A. Monoxenic culture of *Pratylenchus sudanesis* on carrot disks, with evidence of differences in reproductive rates between geographical isolates. **Nematology**, Leiden, v. 6, n. 4, p. 617-619, 2004.

NGUYEN T.T. **A comparative polyphasic study of 10 *Pratylenchus coffeae* populations from Vietnam**. Tese de Doutorado (Ghent University), 141p., 2010.

O'BANNON, J.H.; TAYLOR, A.L. Migratory endoparasitic nematodes reared on carrot disks. **Phytopathology**, St. Paul, v. 58, n. 3, p. 385, 1968.

OLWE, T.; CORBETT, D.C.M. Morphology and morphometrics of *Pratylenchus brachyurus* and *P. zae* II. Influence of environmental factors. **Indian Journal of Nematology**, v. 14, n.1, p. 30-35, 1984.

RIBEIRO, F.E.; SOARES, A.R.; RAMALHO, M.A.P. Divergência genética entre populações de coqueiro-gigante-do-Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.9, p.1615-1622, 1999.

RIBEIRO, N.R.; DIAS, W.P.; SANTOS, J.M. Distribuição de fitonematoides em regiões produtoras de soja no estado de Mato Grosso. **Boletim de pesquisa de soja, Fundação Mato Grosso**, p. 289-296, 2010.

RIVAS, L. **Por ano, nematoides causam prejuízos de R\$ 35 bilhões ao agronegócio nacional.** 2015. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/noticias/poranonematoidescausamprejuizosde35bilhoes-aogronegocionacional_343212.html. Acesso em 23/01/2018.

SANTOS, H.G.; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C.; OLIVEIRA V.A.; LUMBRERAS, J.F.; COELHO, M.R.; ALMEIDA, J.A.; CUNHA, T.J.F.; OLIVEIRA, J.B. **Sistema brasileiro de classificação de solos.** 3.ed. Brasília, DF: Embrapa, 353 p., 2013.

SHIMOYA, A.; VALENTINI, L.; COELHO, A.D.F.; CRUZ, C.D. **Estudo da divergência genética entre genótipos de milho pipoca (*Zea mays* L.).** 2010. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/39307/1/Estudo-divergencia.pdf>. Acesso em 30/01/2018.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, v.41, p. 237- 245, 1981.

SIDDIQII, M.R. **Tylenchida parasites of plants and insects.** Wallingford: CABI publishing, 2 ed, 833 p, 2000.

SOUZA, R. **Soluções para o controle de nematoides.** 2016. Disponível em: <http://www.pioneersementes.com.br/blog/105/solucoes-de-controle-para-nematoides>. Acesso em 24/01/2018.

TORRES, M.S.; CHAVES, E.J. Description of some Pratylenchidae (Nemata) from Argentina. **Nematologia Mediterrânea**, v. 27, p. 281-289, 1999.

TORRES, R.G.; RIBEIRO, N.R.; BOER, C.A.; FERNANDES, O.; FIGUEIREDO, A.G.; FERREIRA NETO, A.; CORBO, E. **Manejo integrado de nematoides em sistema de plantio direto no cerrado.** 2009. Disponível em: <http://docplayer.com.br/13824249-Manejo-integrado-de-nematoides-em-sistema-de-plantio-direto-no-cerrado.html>. Acesso em 23/01/2018.