

JACKELINE GADÉ DE ARAUJO ROSSITER

**Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e
reação de genótipos de *Psidium* spp ao parasitismo de *Meloidogyne
enterolobii***

**Recife
2019**

JACKELINE GADÉ DE ARAUJO ROSSITER

**Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e
reação de genótipos de *Psidium* spp ao parasitismo de *Meloidogyne
enterolobii***

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Agronomia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Professora Dra. Luiza Suely Semen Martins – Orientadora – UFRPE

Dr. Rômulo Maciel Moraes Filho – Coorientador – UFRPE

**Recife
2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

R835g Rossiter, Jackeline Gadé de Araujo
Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóide
e reação de genótipos de *Psidium* spp ao parasitismo de *Meloidogyne*
enterolobii / Jackeline Gadé de Araujo Rossiter. – 2019.
110 f.: il.

Orientadora: Luiza Suely Semen Martins.
Coorientador: Rômulo Maciel Moraes Filho.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Agronomia –
Melhoramento Genético de Plantas, Recife, BR-PE, 2019.
Inclui referências e anexo (s).

1. Goiaba 2. Araça 3. Nematoda 4. Mirtacea 5. Genômica
6. Filogenia 7. DNA mitocondrial I. Martins, Luiza Suely Semen, orient.
II. Moraes Filho, Rômulo Maciel, coorient. III. Título

CDD 581.1

JACKELINE GADÉ DE ARAUJO ROSSITER

Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e reação de genótipos de *Psidium* spp ao parasitismo de *Meloidogyne enterolobii*

Tese defendida e aprovada pela banca examinadora em: 21/05/2019.

ORIENTADOR:

Profa. Dra. Luiza Suely Semen Martins
Área de Genética/Departamento de Biologia/UFRPE

EXAMINADORES

Profa. Dra. Angélica Virginia Valois Montarroyo
Área de Fitotecnia/Departamento de Agronomia/UFRPE

Prof. Dr. Roberto de Albuquerque Melo
Área de Fitotecnia/ Departamento de Agronomia /UFRPE

Profa. Dra. Nara Susy Aguiar de Freitas
Área de Genética/Departamento de Biologia/UFRPE

Prof. Dr. Rafael Trindade Maia
Universidade Federal de Campina Grande/UFCG

**Recife
2019**

“Não são os mais aptos nem os mais inteligentes os que sobrevivem, mas os que se adaptam melhor às mudanças”

Charles Darwin

“Crescimento significa mudança, e toda mudança implica risco de passar do conhecido ao desconhecido”

George Shinn

“O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada.

Caminhando e semeando, no fim terás o que colher”

Cora Coralina

OFEREÇO

À Deus, por ser minha fonte inesgotável de fé, força e confiança, me sustentando perante todos os obstáculos ultrapassados nessa jornada.

DEDICO

Aos meus amados pais, Zezito e Gêrda, que são os meus maiores incentivadores, por todo apoio incondicional, amor e compreensão. Razões do meu viver!!!

Ao meu querido marido Márcio Rossiter, por todo carinho, incentivo, paciência e principalmente com muita compreensão na minha ausência durante toda essa jornada.

À meus amados irmãos (ãs) e cunhados (as) por serem meus melhores amigos, pelo apoio e por vibrarem junto comigo a cada vitória.

Aos meus lindos e amados sobrinhos, por me trazerem os sentimentos mais puros e a leveza da vida.

A todos os amigos e familiares que presente estiveram em minha vida ao longo dessa caminhada.

A minha orientadora Luiza Suely, por ser minha amiga e sempre acreditar no meu sucesso.

A todos que acreditaram que eu seria capaz.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros votos de agradecimento:

A Deus por tudo que já superei e alcancei na vida sempre me guiando e me sustentando.

Ao meus pais pela razão do meu viver, sempre me apoiando e me incentivando em todos os momentos, sempre com muito estímulo.

Ao meu marido Márcio Rossiter, pela compreensão por todos os momentos difíceis, ausências, falta de paciência, entre todas as dificuldades ultrapassadas até a conclusão desta etapa.

Aos meus familiares e amigos pelo companheirismo, compreensão, apoio e força durante toda essa jornada em minha formação.

A minha orientadora a professora Dra Luiza Suely Semen Martins, pelos ensinamentos, companheirismo, dedicação e conselhos sempre me orientando para o melhor aprendizado e para o caminho correto seguir, muitas vezes além de orientadora sendo amiga e mãe acadêmica, como brinco com ela.

Ao meu co-orientador Dr. Romulo Maciel de Moraes Filho pela paciência, incentivo e por me mostrar o mundo fantástico da bioinformática.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia Melhoramento Genético de Plantas (PPGAMGP) por me conceder a oportunidade de aperfeiçoamento e crescimento profissional e pessoal.

À Universidade de São Paulo (USP) unidade Riberão Preto, pela receptividade da Professora Dra. Ana Lilian Alzate Marin e seus alunos Fernando Bonifácio e Priscila Rivas, com todos os seus ensinamentos.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) unidade Semi-Arido, por disponibilizar o Laboratório de Genética Vegetal, através do Dr. Carlos Antônio Fernandes Santos e sua equipe de técnicos e estagiários, em especial a Soniane por ter me passado os seus ensinamentos.

À professora Dra. Angélica Virgínia Valois Montarroyos e ao professor Dr. Dimas Menezes pela grande força, incentivo, auxílio, compreensão e palavras

de conforto, permitindo que esse trabalho fosse concluído e por disponibilizar os seus laboratórios para realização das atividades.

À professora Dra. Rosimar dos Santos Musser por todo ensinamento e incentivo para o término desta tese.

À minha equipe de trabalho, Dr. Romulo Moraes, Edilton Albuquerque, e Alane Guimarães, por toda parceria e companheirismo na jornada diária.

Aos irmãos acadêmicos que essa jornada me deu, Fabian Santana e Islan Diego, por toda paciência, dedicação e solidariedade nesse trabalho.

Aos Engenheiros Agrônomos Dr. Allan Deyws e Dr. Horace Jimenez pela parceria e amizade contribuindo de forma relevante para a pesquisa.

Aos amigos do Programa de Pós-Graduação em Agronomia Melhoramento Genético de Plantas que me deram forças para que cada obstáculo fosse ultrapassado em especial a minha turma Islan, Djayran, Fernando, Edilton, Susany, Sérgio, Jaqueline Terto e Jamile.

A equipe do Professor Dr. José Luiz Sandes, na pessoa de Jacqueline Pereira (PNPD) e todos alunos de graduação Jordana, Elidy, Wesley, Erick, Ray sempre me ajudando e dando suporte nas atividades de campo e laboratório.

Aos funcionários permanentes e aos terceirizados da UFRPE que tanto ajudaram nas atividades diárias, e a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho, minha enorme gratidão.

Agradecimento em especial aos funcionários Bernadete Lemos e Enivaldo Ramos, que nunca deixaram que eu perdesse o estímulo e a confiança de que eu seria capaz.

Aos estagiários e bolsistas do Curso de Agronomia, pela contribuição na realização deste trabalho.

Afirmo que sem a ajuda de todos vocês nada disso seria possível, e, com toda certeza, dizer que essa tese pertence a todos, não só pelo trabalho, mas pela amizade e ensinamentos que vamos levar para o resto de nossas vidas. E, por fim, a todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, muito obrigada. Deus abençoe a todos.

Meus sinceros agradecimentos!

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Principais cultivares de goiabeiras plantadas no Brasil. UFRPE, Recife-PE, 2019.....	23
Tabela 2. Relatos do parasitismo de <i>Meloidogyne enterolobii</i> em goiabeira em municípios do Brasil. UFRPE, Recife-PE, 2019.....	27
Tabela 3. Genomas mitocondriais de fitonematóides disponíveis em bancos de dados públicos. UFRPE, Recife-PE, 2019	37

CAPÍTULO II

Tabela 1. Análise de variância da comparação entre níveis de inoculo, épocas de avaliação para seleção de <i>Psidium</i> spp, visando à resistência a <i>Meloidogyne enterolobii</i> . UFRPE, Recife-PE, 2019.....	60
Tabela 2. Desdobramento dos recipientes dentro das épocas de avaliação para o índice de galhas (IG) no parasitismo de <i>Meloidogyne enterolobii</i> em <i>Psidium</i> spp. UFRPE, Recife-PE, 2019.....	61
Tabela 3: Desdobramento dos recipientes dentro das épocas para o fator de reprodução (FR) no parasitismo de <i>Meloidogyne enterolobii</i> em <i>Psidium</i> spp. UFRPE, Recife-PE, 2019.....	62

CAPÍTULO III

Tabela 1. Número de pares de bases (PB), conteúdo de guanina e citosina (GC), número de genes e família de diferentes espécies de nematoides. UFRPE, Recife-PE, 2019.....	74
Tabela 2. Tamanho em pares de base dos genes de doze espécies de fitonematóides. UFRPE, Recife-PE, 2019.....	77

CAPÍTULO IV

Tabela 1. Reação dos genótipos de Myrtaceae à <i>Meloidogyne enterolobii</i> . UFRPE, Recife-PE, 2019.....	91
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Número de galhas em função do número inicial de ovos nos recipientes dentro das épocas de avaliação para o índice de galhas (IG), no parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em *Psidium* spp..... 63
- Figura 2.** Fator de reprodução em função do número inicial de ovos nos recipientes R1 (tubetes de 280cm³) em cada época de avaliação, no parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em *Psidium* spp..... 64
- Figura 3.** Fator de Reprodução em função do número inicial de ovos no recipiente R2 (sacos de 864cm³) em cada época de avaliação, no parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em *Psidium* spp..... 65
- Figura 4.** Notas de Número de Galhas e Fator de Reprodução em função da época de avaliação, no parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em *Psidium* spp..... 66

CAPÍTULO III

- Figura 1.** Representação linear do genoma mitocondrial de espécies de fitonematóides obtidas pelo servidor OGDRAW (Lohse et al. 2013)..... 75
- Figura 2.** Análise de *Neighbour net* para famílias de fitonematóides geradas com base nas sequências de DNA Ribossomal 28S Nuclear e no gene mitocondrial COX1..... 77
- Figura 3.** Reconstrução filogenética pela metodologia de máxima probabilidade, baseada no gene mitocondrial COX1. Árvore filogenética gerada pelo software MEGA7, usando o método máxima probabilidade e suporte estatístico calculado usando 1000 replicatas. Valores de suporte de bootstrap (%) mostrados na interseção de cada ramo..... 78
- Figura 4.** Reconstrução filogenética pela metodologia de máxima probabilidade, baseada no gene nuclear 28S para Fitonematóides. Árvore filogenética gerada pelo software MEGA7. História evolutiva inferida utilizando o método de Máxima probabilidade baseado no modelo geral de tempo reversível (General Time Reversible Model). Árvore com a maior probabilidade logarítmica (-47747,23) é mostrada. Análise envolvendo 181 sequências de nucleotídeos, totalizando 1550 posições avaliadas. Suporte estatístico calculado usando 1000 replicatas. Valores de suporte de bootstrap (%) mostrados na interseção de cada ramo..... 79

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
CAPÍTULO I: REVISÃO DE LITERATURA	
1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1 Família <i>Myrtaceae</i> e o gênero <i>Psidium</i>	19
2.2 A cultura da goiabeira	21
2.3 Aspectos gerais dos araçazeiros	23
2.4 Parasitismo de <i>Meloidogyne enterolobii</i> em goiabeira	26
2.5 Estratégias de manejo para o controle de <i>Meloidogyne</i> spp	29
2.6 Resistência genética ao <i>Meloidogyne</i> spp	31
2.7 Propagação da goiabeira por enxertia	33
2.8 Análises <i>in silico</i>	35
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
CAPÍTULO II: COMPARAÇÃO ENTRE NÍVEIS DE INOCULO, ÉPOCAS DE AVALIAÇÃO E VARIÁVEIS PARA SELEÇÃO DE <i>Psidium</i> spp. VISANDO À RESISTÊNCIA A <i>Meloidogyne enterolobii</i>	
1. Resumo.....	50
2. Abstract.....	51
3. Introdução.....	51
4. Material e Métodos.....	53
5. Resultados e Discussões.....	54
6. Conclusões.....	56
7. Agradecimentos.....	57
8. Referências Bibliográficas.....	57
CAPÍTULO III: GENÔMICA COMPARATIVA MITOCONDRIAL E FILOGENIA DE ESPÉCIES DE FITONEMATOIDES	
1. Resumo.....	68
2. Abstract.....	69
3. Introdução.....	69
4. Material e Métodos.....	72
5. Resultados e Discussões.....	73
6. Conclusões.....	81
7. Agradecimentos.....	81
8. Referências Bibliográficas.....	81
CAPÍTULO IV RESPOSTA DE GENÓTIPOS DE <i>Psidium guineense</i> E <i>Eugenia uniflora</i> AO PARASITISMO DE <i>Meloidogyne enterolobii</i>	
1. Resumo.....	88
2. Abstract.....	88
3. Introdução.....	89
4. Material e Métodos.....	89
5. Resultados e Discussões.....	89
6. Conclusões.....	89
7. Agradecimentos.....	92
8. Referências Bibliográficas.....	92
ANEXOS	
1. Normas de Redação de Tese / CBAB.....	95
2. Normas da Revista Ciência Rural.....	98
3. Normas da Revista Revista GMR.....	101
4. Normas da Revista Scientia Agricola.....	103

RESUMO

O principal problema fitossanitário da cultura da goiabeira em nosso país é a meloidoginose, causada por *Meloidogyne enterolobii* Yang e Eisenback (= *M. mayaguensis*). A sua incidência resulta em acentuada queda de produtividade e, na maioria das vezes, a morte das plantas em médio prazo. Em geral, as melhores chances de sucesso no controle de *M. enterolobii* estão no uso de materiais resistentes, os quais podem ser obtidos pelo melhoramento genético. Vários estudos sobre a resistência de goiabeiras e araçazeiros a este patógeno já foram realizados, nos quais uma vasta gama de métodos e critérios foram utilizados para se classificar os genótipos. Entretanto, até o presente não foram encontrados genótipos de goiabeiras resistentes a *M. enterolobii*. Visando o controle do nematoide em questão, objetivou-se nesta pesquisa contribuir para identificação de fontes de resistência em goiabeira *Psidium guajava* L, araçazeiro *Psidium* sp. e outras espécies da família Myrtaceae. São três os artigos científicos que compõem esta Tese de Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas, da UFRPE. O primeiro artigo teve como objetivo avaliar diferentes níveis de inoculo de *M. enterolobii*, épocas de avaliação e comparar dois níveis de substratos, em *screenings* de *Psidium* spp. As avaliações ocorreram aos 30 (E1), 60 (E2), 90 (E3), 120 (E4) e 150 (E5) dias após a inoculação, em dois recipientes com volumes diferentes (R1 e R2), quatro níveis de inóculo (I1, I2, I3 e I4), com seis repetições. Cada parcela experimental foi constituída por uma planta, totalizando 240 parcelas, as quais foram delineadas inteiramente ao acaso. De acordo com os resultados obtidos, pôde-se concluir que a avaliação dos testes de parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em *Psidium* spp., podem ser efetivados usando-se um número menor de inóculo (2000 ovos/planta), em um período de apenas três meses, agilizando assim os resultados das pesquisas com esse patógeno. O segundo artigo teve os seguintes objetivos: (1) Observar a organização e conservação dos genomas mitocondriais de espécies de fitonematóides depositadas em bancos de dados públicos e (2) Realizar análises filogenéticas entre espécies de fitonematóides com base em sequencias de genes mitocondriais (Cox1) e nucleares (rRNA 28s) e concluiu-se que as árvores filogenéticas das espécies de fitonematoides revelaram consistência com a proposta de classificação em nível família. Com base nos resultados das

análises filogenéticas, recomenda-se a inclusão da espécie a divisão da família Pratylenchidae ou a remoção das espécies do gênero *Radopholus* e inclusão destas na família Hoplolaimidae. Observa-se claramente o parafiletismo dentro do gênero *Heterodera*, para qual os marcadores utilizados podem não ter resolução suficiente para basear a classificação deste grupo. O terceiro artigo teve como objetivo avaliar a resposta de genótipos das espécies *Psidium guineense* e *Eugenia uniflora* ao parasitismo do nematoide *M. enterolobii*. Ao final da avaliação um genótipo de *P. guineense* e todos os 10 genótipos de *E. uniflora* demonstraram resistência ao patógeno o que abre a possibilidade para o seu uso como porta enxerto para variedades comerciais ou cultivo em áreas infestadas para a redução da população do nematoide no solo.

Palavra-chaves: Análise *in silico*, Myrtaceae, nematoides, goiaba, araçá, mtDNA

ABSTRACT

The main phytosanitary problem of the guava crop in our country is meloidoginose, caused by *Meloidogyne enterolobii* Yang and Eisenback (= *M. mayaguensis*). Its incidence results in a marked drop in productivity and, in most cases, the death of plants in medium-term. In general, the best chances of success in the control of *M. enterolobii* are in the use of resistant materials, which can be obtained by genetic improvement. Several studies have already been carried out on the resistance of guava tree and araçá tree about this pathogen, in which a wide range of methods and criteria were used to classify the genotypes. However, up to the present no guava genotypes resistant to *M. enterolobii* have been found. In order to control the nematode in question, the objective of this research was to contribute to identify sources of resistance in guava *Psidium guajava* L., *Psidium* sp. and other species of the family Myrtaceae. The three scientific articles that compose this PhD thesis in the Graduate Program in Agronomy - Genetic Improvement of Plants, at UFRPE, they were developed with the intention of contributing to the identification of resistance sources in species of Myrtaceae that may serve in the future as rootstock for commercial guavas. The first article had as objective to evaluate different levels of inoculum of *M. enterolobii*, times of evaluation and to compare two levels of substrates, in screenings of *Psidium* spp. The evaluations occurred at 30 (E1), 60 (E2), 90 (E3), 120 (E4) and 150 (E5) days after inoculation, in two containers with different volumes (R1 and R2), four levels of inoculum (I1, I2, I3 and I4) with six replicates. Each experimental plot consisted of one plant, totaling 240 plots which were delineated in DIC (completely randomized). According to the results obtained, it was concluded that the evaluation of parasitism tests of *Meloidogyne enterolobii* in *Psidium* spp can be carried out using a smaller number of inoculum (2000 eggs / plant) in a period of only three months, thus streamlining the results of the research with this pathogen. The second article had the following objectives: (1) To observe the organization and conservation of mitochondrial genomes of phytonematous species deposited in public databases; and (2) To carry out phylogenetic analyzes among species of phytonematodes based on sequences of mitochondrial genes (Cox1) and nuclear genes (rRNA 28s). it was concluded that the phylogenetic trees of the phytonematoid species showed consistency with the classification proposal at the family level. Based on the

results of the phylogenetic analyzes, the inclusion of the species in the family Pratylenchidae or removal of species of the genus Radopholus and inclusion of these species in the family Hoplolaimidae is recommended. It is clearly observed the paraphyletic inside the genus Heterodera, which the markers used may not have sufficient resolution to base the classification of this group. The third article had as objective to evaluate the genotype response of the species Psidium guineense and Eugenia uniflora to the nematode parasitism M. enterolobii. At the end of the evaluation, one P. guineense genotype and all 10 E. uniflora genotypes showed resistance to the pathogen. This opens the possibility for its use as rootstock for commercial varieties or cultivation in infested areas for the reduction of the nematode population in the soil.

Key words: In silico analysis, Myrtaceae, nematoids, guava, araçá, mtDNA

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO

A agricultura representa cerca de 20% da balança comercial brasileira, participando com aproximadamente um trilhão de reais do Produto Interno Bruto (PIB), contribuindo com 41% das exportações do Brasil e empregando, direta e indiretamente, entre 25 e 30 milhões de pessoas, cerca de 30% da população economicamente ativa (Menten, 2014). Neste cenário, a fruticultura nacional apresenta importância crescente em função da ampla variedade de espécies cultivadas em todas as regiões do país, nas mais diversas condições edafoclimáticas, tendo a região Sudeste como principal polo de produção, em âmbito nacional. Em 2015, foi firmado um acordo de R\$ 5,2 milhões entre a Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frutas e Derivados – Abrafrutas, com a Agência Brasileira de Promoção de Exportação e Investimentos – Apex-Brasil, em ações de promoções comerciais para a capacitação de empresas em exportação de frutas frescas e derivados, o que garante um mercado promissor na fruticultura (Abrafrutas, 2016).

O submédio do Vale do São Francisco, polo de Juazeiro-Petrolina, é uma região que tem sua economia centrada na fruticultura irrigada, destacando-se principalmente na produção de mangas (*Mangifera indica*) e uvas (*Vitis* spp.) e uvas, tanto para mercado interno quanto para exportação. No entanto, outras espécies, embora em menor proporção, são também cultivadas, a exemplo da goiabeira, do maracujazeiro, da aceroleira, além de outras fruteiras (Silva et al., 2016). A referida região possui condições edafoclimáticas excepcionais para a fruticultura irrigada intensiva, sendo atualmente é o principal polo de produção de frutas da América Latina, respondendo por 50% das exportações brasileiras de frutas e por 95% das exportações de manga e uva (Reetz et al., 2015).

O Brasil é um dos quatro maiores produtores mundiais de goiaba (FAO 2015), sendo ela uma das frutas mais produzidas, possuindo uma área plantada de 15.231 hectares e uma produtividade de 345.332 ton/ano⁻¹ (IBRAF 2014). A goiabeira é uma das culturas considerada como alternativa rentável para os pequenos produtores (Souza et al., 2008), com a maior parcela dos frutos produzidos destinada à industrialização (Natale et al., 2009). A goiaba de polpa vermelha se destaca entre as frutas, por ser considerada fonte natural de compostos antioxidantes para a população, apresentando em 100 gramas de

polpa 159,8 mg de compostos fenólicos, 85,9 mg de vitamina C e 6999,3 µg de licopeno (Oliveira et al., 2011). Esses dados sugerem que deve ser estimulada a sua inclusão frequente na dieta humana.

Um dos principais fatores que tem limitado a produção de goiaba é a ocorrência do nematoide-das-galhas *Meloidogyne enterolobii* Yang e Eisenback (Sin.: *M. mayaguensis* Rammah e Hirschmann), gerando sérios prejuízos econômicos em várias áreas de cultivo (Pereira et al., 2009), tendo seus primeiros relatos nos municípios de Petrolina (PE), Curaçá e Maniçoba (BA), segundo Carneiro et al. (2001).

No decorrer dos últimos anos, este patógeno foi relatado em todas as regiões brasileiras, e vem causando a erradicação dos pomares de goiabeira nas principais regiões produtoras do País (Sudeste e Nordeste). A carência de estratégias de manejo eficazes para o controle de *M. enterolobii*, vem descapitalizando os produtores, destruindo, em alguns casos, totalmente os pomares (Pereira et al., 2009, Martins et al., 2013).

Com a grande velocidade de disseminação e ampla gama de hospedeiros de *M. enterolobii*, estratégias de manejo integrado de pragas (MIP) eficazes para seu controle elevam os custos de produção. Uma estratégia muito eficiente é a resistência genética de plantas, que pode ser recessiva, dominante ou aditiva, sendo conferida por um ou mais genes (Williamson and Roberts, 2009). A função do(s) gene(s) de resistência é interromper alguma etapa do ciclo de vida dos nematóides, por meio de barreiras físicas, repelentes, toxinas ou outras substâncias de defesa da planta (Williamson and Hussey, 1996).

Considerando que o Brasil é o centro de origem de várias espécies de araçás (*Psidium* spp.), há a possibilidade de identificação de indivíduos com resistência a *M. enterolobii*, compatíveis geneticamente com genótipos de goiaba, os quais poderiam ser usados como porta-enxertos das goiabeiras comerciais. A enxertia é um método de propagação confiável, pois não causa impactos ambientais negativos e poderá viabilizar novamente o cultivo das goiabeiras comerciais, todas até então suscetíveis ao *M. enterolobii*, em áreas infestadas pelo nematoide em questão (Chiamolera, 2018).

Em abril de 2019, a Embrapa Semiárido, após 10 anos de pesquisa, lançou a cultivar BRS Guaraçá, uma planta híbrida resistente ao nematóide *M.*

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

enterolobii, que mistura características de goiabeira e de araçazeiro, para ser utilizada como porta-enxerto (Embrapa, 2019).

A bioinformática tem derivado diversos ramos de pesquisa, inicialmente, a partir da genômica que estuda o DNA, posteriormente, transcriptômica envolvida com pesquisas na transcrição do RNA, a proteômica que responde pelos estudos do conjunto das proteínas e metabolômica relativo aos substratos e subprodutos das reações enzimáticas (Malajovich, 2012). Essas ramificações fazem com que métodos de análise *in silico* propiciem conhecimento de estruturas moleculares que se relacionam as atividades biológicas (Borém and Fristche-Neto, 2013).

Análises *in silico* podem contribuir para a identificação, caracterização estrutural e funcional de sequências genômicas, além de possibilitar a predição de estruturas e funções de proteínas (Borém and Fristche-Neto, 2013). Este tipo de experimentação representa uma alternativa de baixo custo para estudos sobre funções biológicas com modelos computacionais bastante precisos, quando comparados com as condições naturais, e mais especificamente, podem auxiliar na busca de genes ligados ao parasitismo e à resistência nas espécies hospedeiras (Darabi and Seddigh, 2015, Feng et al., 2015, Han et al., 2015, Vatansever et al., 2016, Moraes Filho and Martins, 2016).

Os objetivos desta pesquisa foram: identificar genótipos de goiabeira e de araçazeiro resistentes a *M. enterolobii*, com vistas à utilização como porta-enxertos compatíveis com as variedades comerciais de goiabeira; indicar dosagem eficiente de inóculo para desenvolvimento do parasitismo e estudar as relações filogenéticas entre fitonematóide com bases em sequências de DNA mitocondrial referentes a organização e conservação dos genes mitocondriais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Família *Myrtaceae* e o gênero *Psidium*

A família *Myrtaceae* compreende cerca de 100 gêneros e 3.500 espécies de árvores e arbustos que se distribuem por todos os continentes, à exceção da Antártica, mas com nítida predominância nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (Marchiori and Sobral, 1997). Todas as mirtáceas brasileiras estão

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

incluídas na Tribo Myrteae (Wilson et al., 2005), representada por aproximadamente 1.000 espécies.

Quatro são os gêneros da família *Myrtaceae* que englobam fruteiras de importância econômica: *Eugenia*, *Acca*, *Myrciaria* e *Psidium* (Manica et al., 2001). No gênero *Psidium*, estão agrupadas cerca de 100 espécies (Govaerts et al., 2008), sendo a goiabeira (*P. guajava* L.) a espécie de maior interesse econômico, mas destacando-se também outras espécies, como *P. cattleyanum* Sabine e *P. guineense* Swartz, conhecidas popularmente como araçazeiros (Bezerra et al., 2006).

Considerando a importância econômica das mirtáceas, várias espécies são utilizadas na alimentação, fornecem madeiras, possuem propriedades medicinais e potencial ornamental. Entre as espécies apreciadas por seus frutos temos a goiaba (*P. guajava* L.), a uvaia (*E. uvalha* L. e *E. pyriformes* L.), a pitanga (*E. uniflora* L.), o araçá (*Psidium* spp.) a cerejeira (*E. bracteata* Vell.), o jambo (*Syzygium jambos* (L.) Alston), além da jaticaba (*Plinia cauliflora* L.) e do cambuci (*Campomanesia phaea* (O. Berg) Landrum), também utilizadas na fabricação de licores (Chiamolera, 2015).

Segundo Costa (2009), o gênero *Psidium* está amplamente distribuído em toda a região neotropical, constituído por espécies que ocorrem nos mais diferentes biomas e sujeitas às mais diferentes pressões ambientais, que ocasionam grande plasticidade fenotípica, dificultando a identificação e delimitação de suas espécies. Existem três grandes centros aparentes de diversidade para o gênero *Psidium*: Oeste das Índias Ocidentais; Sul do Brasil e Paraguai; e Norte da América do Sul, incluindo Peru, Venezuela e as Guianas. Essas três áreas apresentam uma ampla classe de habitats naturais, e esse grande número de espécies presentes pode ser resultado da adaptação a esses habitats (Soares-Silva and Proença, 2008).

No gênero *Psidium*, a goiabeira (*P. guajava*) se destaca principalmente pelas características de seus frutos, elevado teor de vitamina C e boa aceitação pelos consumidores, tanto *in natura* quanto na forma processada, como doces, geleias e sucos. Quanto as espécies de araçazeiro, as que despertam maior interesse para exploração comercial são *P. cattleyanum* Sabine e *P. guineense* Swartz, devido as características de seus frutos, que são apreciados pelas

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

populações onde essas espécies ocorrem na forma nativa, estando presentes em diferentes ecossistemas (Bezerra et al., 2006).

Outras espécies do gênero *Psidium* são também encontradas em diversas regiões do Brasil, como *P. acutangulum*, *P. guyanense* e *P. riparium* que ocorrem na transição com a floresta amazônica; *P. striatum* que ocorre na Bacia Amazônica e também na Bacia do Rio da Prata; *P. rufum* e *P. myrtoides* são espécies florestais que ocorrem na Floresta Atlântica e em matas de galeria da região sul do Cerrado e *P. oligospermum* é uma espécie que ocorre na transição com a caatinga (Brandão et al., 2002).

2.2 A Cultura da Goiabeira

A goiabeira (*P. guajava*) é originária das Américas, da zona compreendida entre os trópicos, com provável centro de origem entre o sul do México e o norte da América do Sul (Pereira et al., 2003).

Os maiores produtores mundiais de goiaba são Índia, Paquistão, Brasil, Colômbia e México (Pommer and Murakami, 2009). O Brasil, é o terceiro maior produtor mundial com cerca de 40 milhões de toneladas anuais de frutos, contribuindo com aproximadamente 6% da produção, mas participa com apenas 2% das exportações mundiais (Fachinello et al., 2011). A goiabeira é cultivada em quase todo o território, sendo que as regiões Sudeste e Nordeste destacam-se como as maiores produtoras. Nos últimos 20 anos, o setor frutícola brasileiro vem mudando seu foco, investindo em tecnologias de produção para aumentar o rendimento e melhorar a qualidade das frutas, como na Região do Vale do Rio São Francisco, em que, manga, uva e goiaba são as principais frutas da balança comercial local (Bustamante, 2009).

O fruto é rico em zinco, fibras, niacina, licopeno, além de conter teores elevados de sais minerais, ácido fólico e vitaminas A e do complexo B (Choudhury et al., 2001). A goiaba *in natura*, quando incluída na dieta humana, é importante fonte de vitaminas (especialmente vitamina C) e minerais, no entanto, as características físicas, químicas e organolépticas dos frutos são variáveis em função da cultivar, das condições edafoclimáticas, das práticas de manejo, do estágio de maturação, da conservação pós-colheita, entre outras. Na

medicina popular é usada na prevenção de diversas doenças (Shami and Moreira, 2004, Souza et al., 2011, Flores et al., 2015).

Em relação à comercialização de goiaba, considerando somente frutos *in natura*, estes corresponderam a aproximadamente 0,000008% do produto interno bruto (PIB) do Brasil, o qual atingiu o montante de R\$ 4,84 trilhões em 2013. Somente as regiões Sudeste e Nordeste concentraram 86,9% da área plantada, 91,3% do total produzido e 87,4% do valor bruto da produção. Em nível estadual, São Paulo e Pernambuco, principais polos na cadeia produtiva da goiaba, juntos foram responsáveis por 51,6% da área cultivada, 69,1% da produção e 67,4% do valor gerado pela comercialização dos frutos, e ambos os Estados, detêm uma produtividade, aproximadamente, duas vezes maior em comparação à média brasileira (IBGE, 2013).

As variedades de goiabeira diferem, entre si, em diversos aspectos, como: formato de copa (algumas mais eretas outras mais esparramadas), produtividade, época de produção (precoce, meia estação e tardia), número, tamanho e formato de fruto, além da coloração da polpa. As variedades diferenciam-se, também, quanto ao destino da produção, podendo ser para consumo *in natura* ou para indústria (produção de polpa ou produção de compota). As principais cultivares de goiabeiras plantadas no Brasil são Iwã, Kumagai, Ogawa (1, 2 e 3), Paluma, Pedro Sato, Pentecoste, Rica, Sassaoka, Século XXI e *White selection of Florida* (Gonzaga Neto, 2007). Informações a cerca dessas variedades podem ser onservadas na Tabela 1.

Tabela 1. Principais cultivares de goiabeiras plantadas no Brasil. UFRPE, Recife-PE, 2019

Variedades	Características dos Frutos				Melhoramento Genético
	Formato	Peso	Textura da casca	Coloração da polpa	
Iwão	arredondado a oblongo	350 a 400g	levemente rugosa	branca	Selecionada e fixada por produtores de Carlópolis/PR
Kumagai	ovalado a arredondado	300 a 400g	lisa a rugosa	vermelha e branca	Obtida por seleção efetuada por produtores em Valinhos/SP
Ogawa nº 1	oblongo	300 a 350g	rugosa	branca	Obtida por produtores de Seropédica/RJ, por cruzamento entre goiaba comum vermelha, e uma cultivar denominada 'Ceará'.
Ogawa nº 2	oblongo	300 a 400g	lisa a rugosa	vermelha	Selecionada por produtores de Seropédica/ RJ, por cruzamento com a Ogawa nº 1.
Ogawa nº 3	arredondado	250 a 350g	lisa	rosada	Selecionada por produtores de Seropédica/ RJ, por cruzamento entre Ogawa nº 1, vermelha e a Ogawa nº 2.
Paluma	oblongo levemente ovalado	150 a 300g	rugosa	vermelha	Seleção massal efetuada pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal/SP em população segregante de polinização aberta de Rubi-Supreme.
Pedro Sato	oblongo a piriforme	150 a 300g	rugosa	rosada	Selecionada por produtores a partir de pomares constituídos por plantas propagadas por sementes, provavelmente de 'Ogawa vermelha nº 1', em Nova Iguaçu/RJ.
Pentecoste	piriforme	150 a 200g	lisa	amarela	Selecionada a partir de uma coleção de trabalho formada com mudas provenientes de sementes e implantadas pelo IPA, na Estação Experimental Poço da Cruz, em Ibimirim/PE
Rica	ovalado a piriforme	100 a 250g	rugosa	vermelha	Seleção massal realizada em plântulas de polinização aberta de Supreme em Jaboticabal/SP (UNESP)
Sassaoka	achatado a globoso	300 a 400g	rugosa	rosada clara	Originada de uma plântula de vermelha comum, em Valinhos/SP.
Século XXI	oblongo	150 a 250g	rugosa	róseo – avermelhada	Obtida de cruzamento controlado entre Supreme-2 e Paluma (UNESP)
White selection of Florida	arredondado	130 a 200g	rugosa	branca	Selecionada a partir de uma coleção de trabalho formada com mudas provenientes de sementes e implantadas pelo IPA, na Estação Experimental Poço da Cruz, em Ibimirim/PE

2.3 Aspectos gerais dos araçazeiros

O gênero *Psidium* apresenta cerca de 100 espécies, dentre as quais se destacam a goiabeira e várias espécies de araçazeiros (Pereira, 1995, Sobral et al., 2016). Embora outros gêneros de *Myrtaceae* incluam espécies vulgarmente

conhecidas como araçazeiros, geralmente de frutos comestíveis, *P. cattleianum* e *P. guineense* são as principais espécies pertencentes ao gênero *Psidium*, e são muito variáveis em seus aspectos morfológicos, principalmente quanto aos frutos (Pommer et al., 2013).

Segundo Pio Correa (1984), a palavra “Araçá” vem do Tupi Guarani e significa “fruto que tem olhos”. São arbusto que pode atingir de 1 a 3 m de altura, que ocorre na costa atlântica brasileira, desde a Bahia até o nordeste do Uruguai, principalmente em solos úmidos de matas ciliares e capoeiras (Marchiori and Sobral, 1997; Brandão et al., 2002), com copa arredondada e cheia, que podem ser cultivados em jardins residenciais e vasos grandes. Os ramos têm casca acastanhada à cinza que se desprende em placas finas. São plantas de crescimento moderado que resistem a geadas, vegetam bem em qualquer altitude. O solo pode ser profundo, bem drenado e até pedregoso, com boa fertilidade natural ou não. O fruto do araçazeiro tem sabor que lembra um pouco o da goiaba, embora seja ligeiramente mais ácido e de perfume mais acentuado. É uma fruta pequena, arredondada, com sementes, cuja polpa varia de cor segundo a espécie, predominando o alaranjado e o amarelo-claro. Existem vários tipos de araçá, sendo os mais comuns o araçá-vermelho, araçá-de-cora, araçá-de-praia, araçá-do-campo, araçá-do-mato, araçá-pêra, araçá-rosa e araçá-piranga (Gressler, 2005, Franzon et al., 2009). É usado no preparo de sorvetes e refrescos e também de um doce muito parecido com a goiabada.

A espécie *P. cattleyanum* (araçá, araçá-amarelo ou araçá-de-coroa) é originário do Sul do Brasil e está distribuída desde o Rio Grande do Sul até a Bahia, bem como em outros países da América do Sul. Seus frutos são considerados os melhores entre as espécies de araçazeiro conhecidas. Essa espécie também foi introduzida no Havaí, por volta de 1825, em pequenos cultivos e rapidamente se disseminou por todo o território, sendo considerada uma planta daninha de grande importância nas Ilhas do Havaí (Bezerra et al., 2006, Sobral et al., 2016). É uma espécie arbustiva, às vezes uma árvore, geralmente de tronco tortuoso, de coloração marrom-avermelhada, descamante em placas finas e irregulares; folhas simples e opostas, com lâmina de 5,0-10,0 cm de comprimento, elíptica a oblonga, de base e ápice mais agudos, coriácea; flores isoladas, axilares, com pétalas e estames brancos a creme-alvacentos;

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

fruto subgloboso a obovoide, 2,0-3,0 cm de diâmetro, de coloração amarela (coloração da forma típica) ou vermelha (Pommer et al., 2013), com polpa succulenta, de sabor doce-ácido muito agradável (Santos et al., 2007).

Estudos têm demonstrado que *P. cattleianum* é fonte de resistência a *M. enterolobii*, indicando seu potencial para utilização como porta-enxerto para a goiabeira (Carneiro et al., 2007, Martins et al., 2013). Miranda and Campelo Júnior (2012) indicam o uso de *P. cattleianum* em cruzamentos com goiabeiras visando o melhoramento de cultivares ou para estudo sobre a herança genética da resistência ao nematoide. Além disso, essa espécie de araçazeiro tem sido utilizada no reflorestamento para recuperação ambiental de áreas degradadas (Brandão et al., 2002, Nóbrega et al., 2008).

O araçá da espécie *P. guineense* é originário da América do Sul e apresenta uma ampla área de distribuição, que vai desde o Sul do México até ao Norte da Argentina, ocorrendo nas restingas, tabuleiros, cerradões e capoeiras. Na região do Brasil ocorre em todos os Estados da Federação, onde tem importante papel na economia dos pequenos produtores que colhem e vendem seus frutos nas feiras além de produzirem doces e compotas (Bezerra et al., 2006).

P. guineense é uma frutífera arbórea, com ramos cilíndricos a ligeiramente achatados, pilosos; as folhas são simples e opostas, com lâminas de 3,5-15,0 x 2,58,0 cm, elíptica, oblonga, ovada a obovada, de base arredondada ou aguda, ápice obtuso, arredondado ou agudo, coriáceas, de cor verde-acidentada, e provida de pelos; flores axilares, isoladas ou em grupos de três, de pétalas e estames brancos; o fruto é globoso, podendo ser também elipsoidal ou piriforme, 1,0-3,0 cm de comprimento, amarelo, coroadado com os remanescentes das sépalas (Pommer et al., 2013). A espécie é nativa do Brasil, mas não endêmica, distribuindo-se pela Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (Sobral et al., 2016).

Segundo Caldeira et al. (2004), os frutos dessa espécie não foram considerados de importância calórica, pois apresentam valor energético de apenas 44,5 kcal em 100 g. Esse araçá pode ser considerado uma boa fonte de minerais quando comparado com frutos mais comumente consumidos pela população, como a maçã, a pera e o abacaxi. Assim como os frutos da espécie

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

P. cattleianum, os frutos de *P. guineense* possuem muitas características desejáveis para o consumo, como sabor exótico, alto teor de vitamina C e boa aceitação pelos consumidores (Franzon et al., 2004).

2.4 Parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em goiabeira

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* são tidos como os mais agressivos, pois tem uma distribuição geográfica ampla, apresentando uma grande gama de hospedeiros e causam grandes danos às culturas (Freitas et al., 2001). Esse gênero sobrevive melhor em regiões com temperatura de solos acima de 28°C. A severidade do ataque depende muito da suscetibilidade da cultivar plantada, da espécie e da raça dos nematoides presentes na lavoura, do potencial de inóculo na área e do tipo de solo cultivado. Cultivos sucessivos de cultura hospedeiras, também, favorecem a multiplicação dos nematoides, propiciando um ataque mais severo (Embrapa, 2003).

No Brasil, a espécie *M. enterolobii* foi assinalada pela primeira vez em Petrolina (Pernambuco), Curaçá e Maniçoba (Bahia), por Carneiro et al. (2001), causando danos severos em plantios comerciais de goiabeira. Nesse relato, essa espécie ainda era denominada de *M. mayaguensis*, entretanto atualmente tal espécie é considerada sinonímia de *M. enterolobii*, comprovada por estudos de dados morfológicos, gama de hospedeiros, fenótipos para as enzimas Esterase e Malato Desidrogenase e sequências do mtDNA realizados por Xu et al. (2004).

A espécie *M. enterolobii*, é um patógeno do solo e seu parasitismo às raízes da goiabeira foi relatado em cerca de 20 países na África, América e Europa (Rodríguez et al., 2007), e como consequências desse patossistema, em áreas irrigadas da Região do Médio São Francisco, houve redução de 72,2% da área cultivada entre 2000 e 2006, passando de cerca de 6.000 hectares para menos de 1.700 hectares, em decorrência da erradicação dos pomares infestados (Carneiro et al. 2007). No Brasil, as perdas econômicas diretas em função dessa doença, denominada meloidoginose, foram estimadas em R\$ 112,7 milhões (≈ US\$ 61 milhões no câmbio da época) nos Estados do Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte e Ceará, além das áreas irrigadas nos municípios de Petrolina (Pernambuco) e Juazeiro (Bahia) (Pereira et al., 2009).

Segundo Pereira et al. (2009), a estimativa do prejuízo direto causado pelo *M. enterolobii* para os goiabicultores das principais regiões produtoras do Brasil foi calculada em R\$ 112,7 milhões com dispensa de 3.703 trabalhadores rurais até o ano de 2008. As regiões produtoras sofrem também prejuízos indiretos, como a produção e comercialização de insumos e serviços, distribuição, processamento e comercialização de goiabas e arrecadação de impostos. Para os mesmos autores, a cultura da goiaba continuará a sofrer fortes prejuízos, a não ser que sejam encontradas alternativas de controle para o nematoide-das-galhas.

Após o primeiro registro de *M. enterolobii* infectando raízes de goiabeiras em Pernambuco, a disseminação vem sendo detectada em plantios comerciais de goiabeiras em quase todas as regiões do território brasileiro, conforme ocorrência registrada nos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Ceará, Paraíba, Rio Grande do Norte, Piauí, Paraná, conforme relatores mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Relatos do parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em goiabeira em municípios do Brasil. UFRPE, Recife-PE, 2019

UF	Município	Relatado por:
PE	Petrolina	Carneiro et al. (2001)
RJ	São João da Barra	Lima et al. (2003)
RN	Touros	Torres et al. (2004)
CE	Limoeiro do Norte	Torres et al. (2005)
PR	Santa Mariana	Carneiro et al. (2006)
PI	Parnaíba	Silva et al. (2006)
SP	Microrregião de Jaboticabal	Almeida et al. (2006)
ES	Pedro Canário	Lima et al. (2007)
MS	Novo Horizonte do Sul	Asmus et al. (2007)
RS	Roca Sales	Gomes et al. (2008a)
MA	São Luís	Silva et al. (2008)
GO	Formosa e Luziânia	Siqueira et al. (2009)
TO	Porto Nacional	Charchar et al. (2009)
AL	Traipu	Castro e Santanta (2010)
MG	Cachoeira do Campo e Viçosa	Silva e Oliveira (2010)
PB	Paraíba	Lopes et al. (2010)
MS	Ivinhema	Reis et al. (2011)
MG	Lavras	Martins et al. (2013)

M. enterolobii é um endoparasita sedentário, que, quando juvenis de segundo estágio (J2) eclodem dos ovos, migram para o ápice radicular e por meio de seu estilete, penetram e movem-se intercelularmente para o tecido cortical, onde serão estabelecidos os sítios de alimentação. Após localizados, os J2 iniciam o processo de alimentação através da injeção de secreções das glândulas esofagianas e logo perdem a sua mobilidade. Os juvenis passam por ecdises (juvenis de terceiro e quarto estágio), tomando o formato salsichoide durante o desenvolvimento, e quando adultas, as fêmeas apresentam a forma de pera, enquanto os machos são vermiformes. Nos sítios de alimentação são formadas as células gigantes, enquanto o tecido circundante sofre hiperplasia e hipertrofia, dando origem às galhas, típicas da infecção por *Meloidogyne* spp. Os ovos, que para *M. enterolobii* são de 400 a 600 por fêmea, são depositados pelas fêmeas em uma massa gelatinosa próxima a superfície da raiz e o ciclo de vida é de aproximadamente quatro a cinco semanas em condições edafoclimáticas favoráveis, principalmente solos de textura arenosa, pobres em matéria orgânica, com temperatura entre 15 e 30 °C e umidade de 40 a 60% da capacidade de campo (Prot and Van Gundy, 1981; Mitkowski and Abawi, 2003; Anônimo, 2014).

Na goiabeira, *M. enterolobii* infecta todos os tipos de raízes, desde as radículas superficiais até as mais lignificadas, que costumam estar a mais de 50 cm de profundidade (Carneiro et al., 2001). Gomes et al. (2011) comprovaram que o parasitismo pelo nematoide predispõe as plantas à podridão da raiz causada por *Fusarium solani* (Mart.) Sacc, ou seja, a associação sinérgica entre *M. enterolobii* e *F. solani* causa uma doença complexa – o declínio da goiabeira, cujos sintomas são apodrecimento progressivo do sistema radicular, bronzeamento e queima dos bordos das folhas, amarelecimento total da parte aérea, queda das folhas e morte da planta (Almeida et al., 2013).

Com a evolução da doença, há menor densidade do dossel foliar das goiabeiras e os troncos perdem o ritidoma, característica de alguns gêneros (*Campomanesia*, *Eucalyptus*, *Eugenia*, *Psidium*, entre outros) da família Myrtaceae, tornando-se acinzentados devido a maior exposição à radiação solar, finalizando com a morte das plantas (Carneiro et al., 2001, Freitas et al., 2014). Estes sintomas estão associados à deficiência foliar de nitrogênio, potássio,

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

fósforo, cálcio e magnésio e a um acúmulo de cloro, manganês e sódio (Gomes et al., 2008b).

Essa sintomatologia decorrente do patossistemas envolvendo *Meloidogyne* spp. deve-se a obstrução da estrutura vascular, que prejudica a absorção de água, e favorece infecção por outros patógenos. Assim, a deficiência nutricional nas plantas é a expressão de distúrbios metabólicos resultantes da absorção inadequada dos elementos essenciais, responsáveis pelo funcionamento normal das plantas, refletindo em baixos rendimentos (Williamson and Hussey, 1996, Abad and Williamson, 2010). Com o suprimento insuficiente de nutrientes, a composição mineral das folhas das goiabeiras parasitadas por *M. enterolobii*, geralmente, diferem da composição das folhas das plantas saudáveis. No entanto, essas alterações na composição mineral não seguem um padrão, podendo ocorrer, em alguns casos, redução, acúmulo ou permanecerem inalterados os teores de determinados nutrientes (Almeida et al., 2012).

Estudos realizados por Guimarães et al. (2003) e Rossiter (2007) testaram o parasitismo de *M. enterolobii* em diferentes espécies botânicas. Esses resultados mostram a ameaça que esse nematóide representa para as referidas culturas, comuns na região do assinalamento, caso medidas de exclusão não sejam imediatamente adotadas. Segundo os mesmos autores, no Nordeste, o avanço desse nematoide está provavelmente acompanhando o trânsito de mudas de goiabeira infestadas, e a erradicação dos pomares nem sempre é efetuada com os rigores necessários (Carneiro et al., 2007; Martins et al., 2013).

2.5 Estratégias de manejo para o controle de *Meloidogyne* spp.

Atualmente, não há registro de nematicidas para o controle químico de nematoides em goiabeira (Agrofit, 2015). Moreira and Henriques-Neto (2001), estudando o controle químico de *M. enterolobii* em mudas de goiabeira, observaram que os nematicidas 'Carbofuran' e 'Fenamifós' não foram eficazes em reduzir a população do nematoide no solo.

Outros métodos de controle de *M. enterolobii* têm sido testados nos últimos anos, como o uso de fertilização química e adubos orgânicos (Gomes et al., 2010; Almeida et al., 2012), uso de extratos de plantas (Quevedo et al., 2010),

e efeito dos exsudatos radiculares de mamona (Santos and Gomes, 2011), mas ainda com resultados pouco satisfatórios ou preliminares, nos quais mais pesquisas precisam ser feitas para alcançar efetividade.

O cultivo de espécies antagonistas e/ou má hospedeiras, como as gramíneas (Poaceae) e as leguminosas (Fabaceae), tornou-se um dos métodos de manejo mais eficientes para a redução das populações de nematoides (Gardiano et al., 2014). Em geral, as leguminosas têm duplo propósito, podendo ser utilizadas como adubos verdes ou para a produção de grãos, contribuindo para melhorar as condições químicas, físicas e biológicas do solo (Oka, 2010), e, além de reduzirem as populações de fitonematóides, também se destacam pelo potencial de fixação de nitrogênio, com aporte significativo desse nutriente para o sistema solo-planta (Rühlemann and Schmidtke, 2015).

O uso de resíduos orgânicos, como os esterco, dependendo das doses, frequência de aplicação, relação C/N e fatores edafoclimáticos, contribuem para a manutenção ou aumento do nível de matéria orgânica do solo. O mecanismo de ação da matéria orgânica na supressão de nematoides tem sido atribuído à melhoria da estrutura dos solos, que inclui mudanças no pH e nas propriedades do solo (Ritzinger and Fancelli, 2006; Gomes et al., 2010). Como resultado dessas alterações qualitativas, há maior aeração e capacidade de retenção de água pelo solo, melhoria na nutrição das plantas, aumento da população micro-organismos predadores e liberação de metabólitos tóxicos aos nematoides, como compostos fenólicos (Ritzinger and Fancelli, 2006; Dong et al., 2013).

Outra estratégia, para o manejo de nematoides, é controle biológico via inimigos naturais, como bactérias, nematoides predadores, mas, especialmente com fungos, que parasitam os ovos, predam juvenis e adultos ou produzem substâncias tóxicas (Ritzinger and Fancelli, 2006; Martinelli et al., 2009). Entre os grupos de fungos nematófagos (endoparasitas, predadores e parasitas de ovos), os que apresentam maior potencial para o controle biológico são os que parasitam ovos, como *Pochonia chlamydosporia*, que coloniza e consome os ovos e as fêmeas, sendo sua eficiência no controle de *Meloidogyne* spp. foi comprovada em casa de vegetação e em campo aberto (Luambano et al., 2015a).

Além dos métodos de manejo para o controle de nematoides supracitados, outras estratégias podem ser empregadas, como a biofumigação, solarização, inundação, resistência genética, rotação de culturas ou pousio (Ritzinger and Fancelli, 2006). Porém, para o uso dessas estratégias é necessário considerar a viabilidade econômica, a disponibilidade de resíduos agrícolas e a eficiência de cada manejo, ademais de que, quando são empregadas simultaneamente estratégias de manejo integrado, há maior garantia de sucesso no controle da população de nematoides (Luambano et al., 2015b).

A equipe de pesquisadores da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, identificou acessos de araçás selvagens resistentes a *M. enterolobii* (Cid and Carneiro, 2007). Martins et al. (2013) identificaram quatro genótipos de *P. cattleyanum* resistentes, porém, apresentaram baixa compatibilidade com goiabeiras, quando usadas como porta-enxerto. Apesar desses resultados não tão satisfatórios, representam uma esperança para o controle dessa praga, já que a partir da enxertia podem ser propagadas as variedades comerciais, em benefício dos produtores.

2.6 Resistência genética ao *Meloidogyne* spp.

Após sua identificação e danos causados à goiabeira, *M. enterolobii* ganhou importância e sua polifagia foi detectada em muitas plantas de interesse econômico, em frutíferas, entre outras (Long et al., 2014). Com a grande velocidade de disseminação e ampla gama de hospedeiros de *M. enterolobii*, estratégias de manejo eficazes para seu controle elevam os custos de produção.

Entre as estratégias para o manejo integrado de pragas e doenças mais efetivas e ambientalmente seguras, está a resistência genética de plantas, que pode ser recessiva, dominante ou aditiva, sendo conferida por um ou mais genes (Williamson and Roberts, 2009). A função do(s) gene(s) de resistência é interromper alguma etapa do ciclo de vida dos nematoides, por meio de barreiras físicas, repelentes, toxinas ou outras substâncias de defesa da planta (Williamson and Hussey, 1996).

Quanto aos mecanismos de resistência de plantas a nematoides, a maioria é denominada como resistência pós-infecção ou retardada, onde, os

nematóides penetram as raízes, mas não são capazes de estabelecer sítios de alimentação no cilindro vascular. Contudo, há plantas em que os genes de resistência podem atuar por meio de uma reação de hipersensibilidade, que impede o estabelecimento e a reprodução do nematoide, em função da morte das células que circundam os sítios alimentação, inibindo parcial ou completamente o desenvolvimento desses patógenos (Williamson and Kumar, 2006).

Em plantas resistentes a *Meloidogyne* spp., a reação de hipersensibilidade é o mecanismo de resistência mais frequente, como na expressão dos genes *Mi* em tomateiro (Williamson and Hussey, 1996), Mex-1 em cafeeiro (*Coffea arabica* L.) (Anthony et al., 2005) e Me-7 em pimenta (Pegard et al., 2005). Também existem mecanismos de resistência de plantas a *Meloidogyne* spp. sem que ocorra a reação de hipersensibilidade, como na interação entre feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] e *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood, onde os nematoides são incapazes de completar o ciclo de vida (Das et al., 2008).

Westerich et al. (2011), em estudo comparativo da biologia de *M. enterolobii* e *M. javanica* em tomateiros com gene *Mi*, concluíram que existe a necessidade de obtenção de porta-enxertos resistentes a *M. enterolobii*, uma vez que essa espécie se encontra bastante distribuída pelo Brasil causando danos em diversas culturas de valor econômico.

Uma alternativa para o manejo integrado de nematoides é o uso de cultivares resistentes, que, quando disponíveis são eficazes e não oneram demasiadamente os custos de produção. Todavia, até o momento não se identificou nenhuma cultivar de goiabeira resistente a *M. enterolobii*. Em curto prazo, uma possibilidade viável é identificar alguma espécie resistente que possa ser utilizada como porta-enxerto da goiabeira, para o manejo do nematoide de galha. No caso de encontrar fontes de resistência a *M. enterolobii*, a probabilidade de êxito no processo de enxertia aumenta quanto mais próxima, genética e morfológicamente, são as espécies (Hartmann et al., 2010). Assim, com a grande diversidade genética do gênero *Psidium*, que incluem os araçás, aumentam as chances de haver compatibilidade do processo de enxertia com a goiabeira (Souza et al., 2014).

Vários genótipos e acessos de goiabeiras e araçazeiros (*Psidium* spp.) foram avaliados quanto à reação frente a *M. enterolobii*, sendo encontradas fontes de resistência em araçazeiro-boi (*Eugenia stipitata* McVaugh), araçazeiro-amarelo (*Psidium cattleianum* Sabine), araçazeiro-roxo (*Psidium rufum* Mart. Ex DC.) e goiabeira da Costa Rica [*Psidium friedrichsthalianum* (O. Berg) Nied.] (Freitas et al., 2014). A partir destes resultados, foram realizadas avaliações sobre a viabilidade do método de subenxertia de acessos de *P. cattleianum* em goiabeira 'Paluma', no entanto, a taxa de sobrevivência foi inferior a 20%, sendo a falta de união dos tecidos vasculares o principal fator para o insucesso da técnica (Robaina et al., 2015). Em estudo de compatibilidade conduzido entre *P. cattleianum* e a variedade de goiaba Paluma, foi verificada taxa de pegamento de 30% e incompatibilidade entre a goiabeira 'Paluma' e o porta-enxerto *P. cattleianum* em experimentos no Rio de Janeiro (Robaina et al., 2015).

Distribuídos por todos os biomas brasileiros, os araçazeiros se caracterizam pela rusticidade, que aliado a condições edafoclimáticas favoráveis, podem tornar-se plantas daninhas, como ocorrido no Havá (Wikler et al., 2000). Atualmente, *P. cattleianum* e *Psidium guineense* Swartz são os araçás de maior interesse para cultivo comercial, principalmente, em função de suas características físico-químicas (Franzon et al., 2009; Danner et al., 2010; De Melo et al., 2013). No Rio Grande Sul, em ensaios de seleções de *P. cattleianum* para obtenção de genótipos comerciais, com densidade de 5.000 plantas por hectare (espaçamento 0,5 m × 4,0 m), o rendimento superou 11.000 kg ha⁻¹ a partir do segundo ano de cultivo (Danner et al., 2010).

Ademais de *P. cattleianum* e *P. guineense*, no Brasil são relatadas mais de 20 espécies de araçás (Franzon et al., 2009), que podem ser avaliadas quanto à reação a *M. enterolobii* e se encontradas fontes de resistências, testadas como porta-enxertos para goiabeira.

2.7 Propagação da goiabeira por enxertia

A propagação da goiabeira pode ser realizada de forma sexuada ou assexuada. A propagação sexuada torna os pomares bastante heterogêneos, não apenas em relação ao porte e à produção, mas também com relação às características dos frutos (Pereira et al., 1983). Portanto, os pomares comerciais

devem ser implantados com mudas de goiabeiras produzidas por técnicas de propagação assexuada.

A propagação vegetativa da goiabeira pode ser realizada por meio de alporquia, estaquia (de raiz ou de ramos), enxertia (borbulhia ou garfagem) e por cultura de tecidos (Manica et al., 2001), embora a propagação comercial venha sendo realizada, principalmente, por meio de estacas herbáceas, enraizadas em câmaras de nebulização intermitente (Zietemann and Roberto, 2007). A enxertia possibilita a união de partes de plantas, de tal maneira, que continuem seu desenvolvimento e crescimento como uma única planta. A parte superior que formará a copa da nova planta recebe o nome de enxerto (epibioto ou cavaleiro) e a parte inferior que formará o sistema radicular é denominada porta-enxerto (hipobioto ou cavalo) (Silva et al., 2011).

A enxertia é uma técnica consagrada na horticultura, empregada em escala comercial nas principais espécies frutíferas de clima temperado e tropical. A técnica permite a reprodução de genótipos, principalmente cultivar-copa, que apresentam características desejáveis, e em alguns casos, é o único meio de propagação. Além dessas vantagens, a propagação por enxertia possibilita a redução do período juvenil das plantas, antecipando a fase de floração e frutificação; permite o uso de porta-enxertos resistentes a enfermidades, a diferentes condições climáticas e de solo; modifica o porte das plantas; substitui variedades-copa; fixa mutações; pode aumentar a produtividade e melhorar as características físico-químicas dos frutos (Kyriacou and Soteriou, 2015; Tetsumura et al., 2015).

A incompatibilidade na enxertia pode ser observada pelo desenvolvimento anormal do enxerto, em razão de diferenças anatômicas, fisiológicas, bioquímicas e/ou moleculares. Sintomas de incompatibilidade em espécies lenhosas são relacionados ao espessamento da casca na região de união, diferenças de vigor entre porta-enxerto e cultivar-copa, engrossamento excessivo na região de união do enxerto, rompimento da união do enxerto, redução da taxa crescimento vegetativo, baixa produtividade e morte prematura das plantas (Hartmann et al., 2010; Pereira et al., 2014). A incompatibilidade na enxertia pode ser classificada em translocada e localizada, sendo que, os principais mecanismos responsáveis pela incompatibilidade são o

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

reconhecimento celular promovido por plasmodesmas, interações hormonais, compostos fenólicos e glicosídeos cianogênicos (Pereira et al., 2014).

Um dos principais fatores para o sucesso nesse tipo de propagação é a escolha da planta matriz, devendo esta ser representativa da variedade, ter boa sanidade, não ter deficiência ou excesso nutricional, estar em plena produção e ser mantida em ambiente adequado (Martins and Hojo, 2009).

Segundo informações mais recentes, a Embrapa Semiárido lançou a cultivar BRS Guaraçá, uma planta híbrida resistente ao nematóide *M. enterolobii*, que mistura características de goiabeira e de araçazeiro, para ser utilizada como porta-enxerto, pois de acordo com o pesquisador Carlos Antônio Fernandes Santos, a tecnologia é a melhor opção para o enfrentamento da nematose da goiabeira, pois o híbrido produzido tem demonstrado resistência ao patógeno e alta compatibilidade com as mais importantes variedades comerciais, não apresentando custos elevados para obtenção de mudas, e é agrônômica e ambientalmente segura e viável” (Embrapa, 2019).

2.8 Análises *In Silico*

O grande volume de informações geradas diariamente, pelas pesquisas em andamento, torna necessários mecanismos computacionais para o armazenamento e processamento destes dados para posteriores pesquisas. De forma análoga às técnicas computacionais tradicionais necessita-se, também, o armazenamento de informações que são geradas por interações biológicas complexas. A bioinformática assume o papel de organizar, armazenar e analisar informações contidas em biomoléculas como DNA, RNA e proteínas, propiciando a identificação de novos fenômenos biológicos e análise de novos genes através de comparações de sequências biológicas de diversas espécies. Portanto, fonte de pesquisas biológicas que se utiliza de ferramentas computacional é denominada *in silico* (Borém and Fristche-Neto, 2013).

A bioinformática tem derivado diversos ramos de pesquisa, inicialmente, a partir da genômica que estuda questões do DNA, posteriormente, transcriptômica envolvida com pesquisas na transcrição do RNA, a proteômica que responde pelos estudos do conjunto das proteínas e metabolômica relativo aos substratos e subprodutos das reações enzimáticas (Malajovich, 2012).

Essas ramificações fazem com que métodos de análise *in silico* propiciem conhecimento de estruturas moleculares que se relacionam as atividades biológicas (Borém and Fristche-Neto, 2013).

Informações biológicas em bancos de dados são manipuladas por conjunto de *softwares* gerando informações genéticas. Sequências de nucleotídeos são adicionadas aos bancos de dados públicos na ordem de milhões de pares de bases (pb) recebendo identificação única chamadas de acessos, evitando assim, redundância de dados que são disponibilizados aos pesquisadores. Os bancos de dados são divididos em primários e secundários, sendo o primeiro resultante de dados de sequência gênica disponibilizadas com alguma interpretação adicional, contudo, sem uma análise exaustiva dos dados, a exemplo o GenBank. Enquanto, os bancos de dados secundários derivam do primário, porém, há um refinamento das informações contidas neles que foram compiladas e interpretadas previamente por pesquisadores, sendo a base de dados, atualizadas à medida que surgem novas descobertas, a exemplo o Protein Bank (Reis et al., 2011).

Um dos melhores bancos de dados do mundo é o NCBI (Centro Nacional para Informação Biotecnológica dos EUA), que disponibiliza seus dados em seu site através de sua plataforma ENTREZ, permitindo acesso a sequências de DNA e proteínas de diversos organismos (Reis et al., 2011). Bancos de dados da Europa e Japão estão em sincronização em intervalos de 24 horas com NCBI, atualizando suas bases garantindo assim disponibilidade de informações. As análises computacionais também têm sido utilizadas para a caracterização de diversas proteínas e enzimas tanto em eucariotos quanto em procariotos, e busca de genes ligados ao parasitismo e também resistência nas espécies hospedeiras (Darabi and Seddigh, 2015, Feng et al., 2015, Han et al., 2015, Vatansever et al., 2016, Moraes Filho and Martins, 2016).

Portanto, análises *in silico* fornecem recursos de busca de informações a procura de genes de resistência em diversos organismos diminuindo os custos e agilizando a obtenção de informações que demandariam certo tempo (Verli, 2014). Até a presente data, existem em torno de 2500 sequências genômicas do gênero *Meloidogyne* depositadas no *GenBank*, destacando-se as espécies *Meloidogyne incognita* (1017), *Meloidogyne chitwoodi* (461), *Meloidogyne*

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

javanica (368), *Meloidogyne hapla* (363), *Meloidogyne arenaria* (244), *Meloidogyne fallax* (196), *Meloidogyne enterolobii* (165), *Meloidogyne naasi* (140) e *Meloidogyne graminicola* (139). Diversos outros gêneros relacionados de fitonematóides possuem sequências depositadas no *GenBank*, como *Heterodera*, *Globodera*, *Bursaphelenchus* e *Aphelenchus* (NCBI 2018). Doze genomas mitocondriais completos de espécies de fitonematóides estão depositados em bancos de dados públicos e podem fornecer informações importantes para a compreensão da evolução e relações filogenéticas dentro deste grupo de organismos. (Tabela 3).

Tabela 3. Genomas mitocondriais de fitonematóides disponíveis em bancos de dados públicos

Espécie	Ref.seq	Família
<i>Aphelenchoides besseyi</i>	NC_025291.1	Aphelenchoididae
<i>Bursaphelenchus mucronatus</i>	NC_021120.1	Aphelenchoididae
<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>	GQ332424.1	Aphelenchoididae
<i>Meloidogyne arenaria</i>	KP202350.1	Meloidogynidae
<i>Meloidogyne chitwoodi</i>	NC_024096.1	Meloidogynidae
<i>Meloidogyne graminicola</i>	KJ139963.1	Meloidogynidae
<i>Meloidogyne incognita</i>	KJ476151.1	Meloidogynidae
<i>Meloidogyne javanica</i>	KP202352.1	Meloidogynidae
<i>Meloidogyne enterolobii</i>	NC_026555.1	Meloidogynidae
<i>Meloidogyne oryzae</i>	MK507908.1	Meloidogynidae
<i>Pratylenchus vulnus</i>	NC_020434.1	Pratylenchidae
<i>Radopholus similis</i>	NC_013253.1	Pratylenchidae

2.8.1 Diversidade Filogenética

Analisar uma comunidade biológica pelo ponto de vista filogenético também pode nos permitir acessar os processos que estão influenciando na montagem ou organização, no tempo e no espaço, das comunidades (Webb, 2000). Nas últimas duas décadas, os pesquisadores têm examinado o uso das relações filogenéticas como resposta das diferenças ecológicas entre as espécies (Webb, 2000). Nesse contexto, o grau de parentesco entre as espécies pode simbolizar a semelhança ecológica entre elas, uma vez que é assumido

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

que as espécies mais próximas filogeneticamente são mais similares entre si (Webb, 2000; Mouquet et al., 2012; Cadotte et al., 2013).

A estrutura filogenética das populações pode informar a história das características ecológicas das espécies, ou seja, como elas evoluíram. Por exemplo, se espécies distantes filogeneticamente são similares (características convergentes), é esperado uma dispersão filogenética porque as espécies que irão compor as comunidades serão menos aparentadas. Mas, se as espécies que compõem a comunidade são próximas filogeneticamente e também são similares ecologicamente (características conservadas; presença de sinal de filogenético), nós esperamos encontrar um agrupamento filogenético (Webb, 2002).

Para efetivamente conhecer os processos responsáveis pela montagem da população faz-se necessário acessar o sinal filogenético e a estrutura filogenética. O sinal filogenético é o resultado da relação entre as características funcionais e filogenéticas, indicando se as espécies relacionadas filogeneticamente são mais similares do que as espécies relacionadas ao acaso; permitindo conhecer a história evolutiva do clado (Blomberg and Garland, 2002). A estrutura filogenética pode ser acessada por inúmeras métricas, como a diversidade filogenética, a distância média de pares de espécies, a distância média com a espécie vizinha mais próxima, riqueza filogenética (Tucker et al., 2016).

Muitos estudos taxonômicos abordam questões filogenéticas para conhecer ou validar espécies, gêneros ou famílias que antes apenas levavam em conta uma abordagem lineana (i.e. baseado, apenas na morfologia). Nesse sentido, avanços significativos têm sido feitos, de modo que se pode estimar a idade dos cladogramas filogenéticos que compõem as populações (Webb et al., 2008).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abad P and Williamson VM (2010) Plant nematode interaction: a sophisticated dialogue. Maryland Heights, **Advances in Botanical Research** 53: 147–192.

Abrafrutas (2016) Exportadores de frutas buscam novos mercados. Brasília, 2016. Disponível em: <<http://www.abrafrutas.org/index.php/pt-br/noticias/152-exportadores-de-frutas-buscam-novos-mercados>>. Acesso em: 07 jan. 2016.

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

Agrofit – Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (2015) Consulta de Praga/Doença. Disponível em http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/lap_praga_detalhe_cons?p_id_cultura_praga=4416. Acesso em 10 de março de 2015.

Almeida EJ, Soares PLM, Santos JM e Martins ABG (2006) Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba (*Psidium guajava*) no Estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira** 30: 112-113.

Almeida AM, Souza RM, Gomes VM, Ferreira TF, Mussi-Dias V (2013) Field assessment of meat and bone meal for management of guava orchards affected by guava decline. Auburn. **Nematropica** 43: 2: 247–253.

Almeida MA, Souza RM, Gomes VM, Miranda GB (2012) Greenhouse and field assessment of different organic compounds against guava-parasitic *Meloidogyne enterolobii*. **Bragantia** 71: 1: 67-74.

ANÔNIMO (2014) *Meloidogyne enterolobii*. EPPO Bulletin, Chichester 44: 2: 159–163.

Anthony F, Topart P, Martinez A, Silva M, Nicole M (2005) Hypersensitivelike reaction conferred by the Mex-1 resistance gene against *Meloidogyne exigua* in coffee. Chichester, **Plant Pathology** 54: 4: 476–482.

ASMUS GL, VICENTINI EM, CARNEIRO RMDG (2007) Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado de Mato Grosso do Sul. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 30, n. 2, p.112.

Bezerra JEF, Lederman IE, Silva Junior JF (2006) **Recursos genéticos e melhoramento de fruteiras nativas e exóticas em Pernambuco**. In: QUEIRÓZ, M. A. de.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. (Ed.). Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste Brasileiro. Petrolina, PE: Embrapa Semi-Árido/ Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Blomberg SP, Garland T (2002) Tempo and mode in evolution: phylogenetic inertia, adaptation and comparative methods. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 15, p. 899-910.

Borém A and Fristche-Neto R (2013) **Ômega 360°: Aplicações e estratégias para o melhoramento de plantas**. Editora Supreme, Visconde do Rio Branco, 289p.

Brandão M, Laca-Buendía JP, Macedo JF (2002) **Árvores nativas e exóticas do Estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte: EPAMIG. 528p.

Bustamante PMAC (2009) A fruticultura no Brasil e no Vale do São Francisco: vantagens e desafios. Fortaleza, **Revista Econômica do Nordeste** 40: 1: 153–171.

Cadotte MW (2013) Experimental evidence that evolutionarily diverse assemblages result in higher productivity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, p. 8996–9000.

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

Caldeira SD, Hiane PA, Ramos MIL, Filho MMR (2004) Caracterização físico-química do araçá (*Psidium guineense* Sw.) e do tarumã (*Vitex cymosa* Bert.) do Estado de Mato Grosso do Sul. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos** 22: 1: 145-154.

Carneiro RG, Monaco APA, Moritz MP, Nakamura KC e Scherer A (2006) Identificação de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e em plantas invasoras, em solo argiloso, no Estado do Paraná. **Nematologia Brasileira** 30: 293-298.

Carneiro RMDG, Cirotto PA, Quintanilha AP, Silva DS, Carneiro RG (2007) Resistance to *Meloidogyne mayaguensis* in *Psidium* spp. Accessions and their grafting compatibility with *P. guajava* cv. Paluma. Brasília, **Fitopatologia Brasileira** 32: 4: 281–284.

Carneiro RMDG, Moreira WA, Almeida MRA, Gomes ACMM (2001) Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. Piracicaba, **Nematologia Brasileira** 25: 2: 223–228.

CASTRO JMC, SANTANA TAS (2010) Primeiro registro de *Meloidogyne enterolobii* em goiabeira no Estado de Alagoas. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 34, n. 3, p. 169–171.

CHARCHAR JM, FONSECA MEN, BOITEUX LS, LIMA NETO AF (2009) Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no estado do Tocantins. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, n. 2, p. 182–186.

Chiamolera FM (2015) **Reação de araçazeiro a *Meloidogyne enterolobii* e enxertia da goiabeira ‘Paluma’ em portaenxerto resistentes** / Fernando Marcelo Chiamoleira. – Jaboticabal, 2015. 61 p.: il. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

Chiamolera FM, Martins ABG, Soares PLM, Cunha-Chiamolera TPL (2018) Reaction of potential guava rootstocks to *Meloidogyne enterolobii*. **Revista Ceres** 65: 291-295.

Choudhury MM, Costa TS, Araújo JLP (2001) **Goiaba: Pós-colheita**. In: Agronegócio da Goiaba. P. 9-15. EMBRAPA Informação Tecnológica, 45p.

Cid LPB and Carneiro R (2007) Embrapa investe em técnicas de biotecnologia para controlar nematoide da goiabeira. 2007. Disponível em: <<http://www.todafruta.com.br/portal/icNoticiaAberta.asp?idNoticia=15602>>. Acesso em: 09 de abril de 2016.

Costa IR (2009) **Estudos evolutivos em Myrtaceae: aspectos citotaxonômicos e filogenéticos em Myrteae, enfatizando *Psidium* e gêneros relacionados**. 235 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Danner MA, Raseira MCB, Sasso SAZ, Citadin I, Scariot S (2010) Repetibilidade de caracteres de fruto em araçazeiro e pitangueira. Santa Maria, **Ciência Rural** 40: 10: 2086–2091.

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

Darabi M, Seddigh S (2015) Bioinformatic characterization of aspartic protease (AP) enzyme in seed plants. **Plant Systematics and Evolution** 301: 2399-2417.

Das S, Demanson DA, Ehlers JD, Close TJ, Roberts PA (2008) Histological characterization of root-knot nematode resistance in cowpea and its relation to reactive oxygen species modulation. Oxford, **Journal of Experimental Botany** 59: 6: 1305–1313.

De Melo A, Seleguini A, Santos Veloso V (2013) Physical and chemical characterization of fruits of araçá (*Psidium guineense* Swartz). **Comunicata Scientiae** 4: 1: 91-95

Dong Z, Hou R, Chen Q, Ouyang Z, Ge F (2013) Response of soil nematodes to elevated temperature in conventional and no-tillage cropland systems. Dordrecht, **Plant Soil** 373: 1: 907–918.

Embrapa (2003) **Cultivo de tomate para industrialização. Doenças causadas por nematoides**. [http://sistemadeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/Tomate Industrial/doencas_nema.htm](http://sistemadeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/Tomate%20Industrial/doencas_nema.htm)>. Acesso em: 07 de julho 2014.

Embrapa (2019) **Embrapa lança primeiro porta-enxerto para goiabeira resistente ao nematoide-das-galhas**. <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/42785409/embrapa-lanca-primeiro-porta-enxerto-para-goiabeira-resistente-ao-nematoide-das-galhas>. Acesso 20/04/19.

Fachinello JC, Pasa MS, Schmitz JD, Betemps DL (2011) Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. Jaboticabal, **Revista Brasileira de Fruticultura** 33: 109–120.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations (2015) Disponível em www.fao.org.br. Acessado em 05/07/2018.

Feng BZ, Li PQ, Fu L, Yu XM (2015) Exploring laccase genes from plant pathogen genomes: a bioinformatic approach. **Genetics and Molecular Research** 14: 14019-4036.

Flores G, Wu S, Negrin A, Kennelly EJ (2015) Chemical composition and antioxidant activity of seven cultivars of guava (*Psidium guajava*) fruits. Amsterdam, **Food Chemistry** 170: 327–335.

Franzon RC, Antunes LEC, Raseira MDCB (2004) Efeito do AIB e de diferentes tipos de estaca na propagação vegetativa da goiabeira-serrana (*Acca sellowiana* Berg). **Revista Brasileira de Agrociência** 10: 4: 515-518.

Franzon RC, Campos LZO, Proença CEB, Sousa-Silva JC (2009) **Araçás do gênero *Psidium*: principais espécies, ocorrência, descrição e usos**. Planaltina: Embrapa Cerrados. 48 p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 266).

Freitas LG, Oliveira RDL, Ferraz S (2001) **Introdução à nematologia**. Viçosa: UFV. 84 p.

Freitas VM, Correa VR, Motta FC, Sousa MG, Gomes ACMM, Carneiro MDG, Silva DB, Mattos JK, Nicole M, Carneiro RMDG (2014) Resistant accessions of

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

wild *Psidium* spp. To *Meloidogyne enterolobii* and histological characterization of resistance. Chichester, **Plant Pathology** 63: 4: 738–746.

Gardiano CG, Krzyzanowski AA, Saab OJGA (2014) Eficiência de espécies de adubos verdes sobre a população do nematoide reniforme. Londrina, **Semina: Ciências Agrárias** 35: 2: 719–726.

Gomes VM, Souza RM, Corrêa FM, Dolinski C (2010) Management of *Meloidogyne mayaguensis* in commercial guava orchards with chemical fertilization and organic amendments. Piracicaba, **Nematologia Brasileira** 34: 1: 23–30.

Gomes VM, Souza RM, Mussi-Dias V, Silveira SF, Dolinski C (2011) Guava decline: a complex disease involving *Meloidogyne mayaguensis* and *Fusarium solani*. Berlin, **Journal of Phytopathology** 159: 1: 45–50.

GOMES CB, COUTO MEO, CARNEIRO RMDG (2008a) Registro de ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e fumo no Sul do Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 32, n. 3, p. 244–247.

Gomes VM, Souza RM, Silva MM, Dolinski C (2008b) Caracterização do estado nutricional de goiabeiras em declínio parasitadas por *Meloidogyne mayaguensis*. Campinas, **Nematologia Brasileira** 32: 2:154-160.

Gonzaga Neto L (2007) **Produção de goiaba**. Instituto Frutal, Fortaleza, 64p.

Govaerts R, Sobral M, Ashton P, Barrie F, Holst BK, Landrum LL, Matsumoto K, Mazine FF, Nic Lughadha E, Proença C, Soares-Silva L.H, Wilson PG, Lucas E (2008) **World checklist of Myrtaceae**. Kew Publishing, Royal Botanic Gardens, Kew.

Gressler E (2005) **Floração e frutificação de Myrtaceae de floresta atlântica: limitações ecológicas e filogenéticas**. 62p. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

Guimarães LM, Moura RMD, Pedrosa EMR (2003) Parasitismo de *Meloidogyne mayaguensis* em diferentes espécies botânicas. Piracicaba, **Nematologia Brasileira** 27: 139-145.

Han Y, Zheng QS, Wei YP, Chen J, et al. (2015) In silico identification and analysis of phytoene synthase genes in plants. **Genet. Mol. Res** 14: 9412-9422. <http://dx.doi.org/10.4238/2015>.

Hartmann HT, Kester DE, Davies FT, Geneve R (2010) **Plant Propagation: Principles and Practices**. 8. Ed. New Jersey: Prentice Hall. 928 p.

IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2013) Banco de Dados: Estados: Lavoura Permanente 2013. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 05 out. 2015.

IBRAF-Instituto Brasileiro de Frutas (2014) Alerta de exportação: vencendo as atuais barreiras fitossanitárias de mercados potenciais - prioridades para negociações internacionais. São Paulo, 2014. 203 p.

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

Kyriacou MC, Soteriou G (2015) Quality and postharvest performance of watermelon fruit in response to grafting on interspecific cucurbit rootstocks. Hoboken, **Journal of Food Quality** 38: 1: 21–29.

LIMA IM, MARTINS MVV, SERRANO LAL, CARNEIRO RMDG (2007) Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira cv 'Paluma' no estado do Espírito Santo. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 31, n. 2, p. 133.

LIMA IM, DOLINSKI CM, SOUZA RM (2003) Dispersão de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabais de São João da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros dentre plantas invasoras e cultivadas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 24., 2003, Petrolina. Anais..., Petrolina, p. 139.

Long HB, Bai C, Peng J, Zeng FY (2014) First report of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* infecting jujube in China. Saint Paul, **Plant Disease** 98: 10: 1451–1451.

LOPES EB, BRITO CH, BATISTA JL, SILVA AB (2010) Ocorrência do nematóide *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira (*Psidium guajava*) no estado da Paraíba. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 4, n. 2, p.12-16.

Luambano ND, Manzanilla-López RH, Kimenju JW, Powers SJ, Narla RD, Wanjohi WJ, Kerry BR (2015a) Effect of temperature, pH, carbon and nitrogen ratios on the parasitic activity of *Pochonia chlamydosporia* on *Meloidogyne incognita*. Maryland Heights, **Biological Control** 80: 23–297.

Luambano ND, Narla RD, Wanjohi WJ, Kimenju JW, Kerry BR (2015b) Integrated management of root-knot nematodes in a tomato-maize crop system using the biocontrol fungus *Pochonia chlamydosporia*. Amsterdam, **Crop Protection** 71: 45–50.

Malajovich MA (2012) **Biotecnologia**. Editora Max Feffer do Instituto de Tecnologia ORT, Rio de Janeiro, 320p.

Manica I, Icumá IM, Junqueira NTV, Salvador JO, Moreira A, Malavolta E (2001) **Goiaba do plantio ao consumidor: tecnologia de produção, pós-colheita, comercialização**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 124p.

Marchiori JNC, Sobral M (1997) **Dendrologia das angiospermas**. Myrtales. Santa Maria: Editora da UFSM.

Martinelli PRP, Santos JM, Sant'anna SJ, Soares PLM (2009) Fungos nematófagos em pomares de citros nos Estados de São Paulo e Goiás. Piracicaba, **Nematologia Brasileira** 33: 2: 123–131.

Martins ABG, Hojo RH (2009) **Propagação da goiabeira**. In: Natale, W.; Rozane, D. E., Souza, H. A. de.; Amorim, D. A. de. Cultura da goiaba: do plantio à comercialização. Vol.2, Jaboticabal, p. 399-406.

Martins LSS, Musser RS, Souza AG, Resende LV, Maluf WR (2013) Parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em espécies de Myrtaceae. Jaboticabal, **Revista Brasileira de Fruticultura** 35: 2: 477–484.

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

Menten JO (2014) PIB Brasil: mais uma vez, o agro salvando a lavoura. São Paulo, **Revista AgriMotor** 10: 93: 24–24.

Miranda MN and Campelo Júnior JH (2012) Qualidade de Frutos de Laranjeira ‘Pêra’ Colhidos nas Condições Ambientais do Município de Colorado do Oeste–Rondônia. **Uniciências** 16: 1: 39-43. Disponível em:< <http://www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/uniciencias/article/view/544>> doi: /10.17921/1415-5141.2012v16n1p%25p.

Mitkowski NA, Abawi GS (2003) **Root-knot nematodes**. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2003-0917-01.

Moraes Filho R and Martins LSS (2016) In silico comparative analysis of tylenchid nematodes pectate lyases. **Genetics and Molecular Research**, gmr.15038402.

Moreira WA, Henriques Neto D (2001) **Attack by gall nematode (*Meloidogyne mayaguensis*) to seedlings of guava obtained from cuttings and grafting**. Embrapa Semi-Árido. Comunicado Técnico, n. 107, 4p.

Mouquet N, Devictor V, Meynard C, Munoz F, Bersier LF, Chave J, Couteron P, ... and Thuiller W (2012) Ecophylogenetics: advances and perspectives. **Biological Reviews**, v. 87, p. 769–785.

Natale W, Rozane DE, Souza HÁ, Amorim DA (2009) **Cultura da Goiaba do Plantio a Comercialização**. 1. Ed. Jaboticabal: FCAV, vol. 1, 284p.

Nóbrega AMF, Valeri SV, Paula RC, Silva AS (2008) Regeneração natural em remanescentes florestais e áreas reflorestadas da várzea do rio mogi-guaçu, Luiz Antônio – SP. **Revista Árvore** 32: 5: 909-920.

Oka Y (2010) Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments – A review. Amsterdam, **Applied Soil Ecology** 44: 2: 101–115.

Oliveira DA, Aquino PP, Ribeiro SMRR, Proença RPC, Pinheiro Sant’ana HM (2011) Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum** 33: 1: 89-98.

Pegard A, Brizzard G, Fazari A, Soucaze O, Abad P, Djiancarporalino C (2005) Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annum*. Saint Paul, **Phytopathology** 95: 2: 158–165.

Pereira, FM (1995) **Cultura da goiabeira**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista: FUNEP, 47p.

Pereira FM, Carvalho CA, Nachtigal JC (2003) Século XXI: nova cultivar de goiabeira de dupla finalidade. Jaboticabal, **Revista Brasileira de Fruticultura** 25: 3: 498–500.

Pereira FM, Oioli AAP, Banzato DA (1983) Enraizamento de diferentes tipos de estacas enfolhadas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) em câmaras de nebulização. São Paulo, **Científica** 11: 2: 239-244.

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

Pereira FOM, Souza RM, Souza PM, Dolinski C, Santos GK (2009) Estimativa do impacto econômico e social direto de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba no Brasil. Piracicaba, **Nematologia Brasileira** 33: 2: 176–181.

Pereira IS, Fachinello JC, Antunes LEC, Campos AD, Pina A (2014) Incompatibilidade de enxertia em *Prunus*. Santa Maria, **Ciência Rural** 44: 9: 1519–1526.

Pio Correa M (1984) **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, p.140-144.

Pommer CV, Oliveira OFD, Santos CAF (2013) **Goiaba: recursos genéticos e melhoramento**. 1 Ed. Edufersa: Mossoró/RN, 126p.

Pommer CV, Murakami KRN (2009) Breeding Guava (*Psidium guajava* L.). In: Jain, S.M., Priyadarshan, P.M., **Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species**. V.1. New York: Springer, p.83-120.

Prot JC, Van Gundy SD (1981) Effect of soil texture and the clay component on migration of *Meloidogyne incognita* second-stage juveniles. Marceline, **Journal of Nematology** 13: 2: 213–217.

Quevedo O, Crozzoli R, Perichi G (2010) Uso de extractos acuosos y etanólicos de plantas para el control de *Meloidogyne enterolobii* (Nematoda: *Tylenchida*). **Fitopatologia Veneza** 23: 2: 45-53.

Reetz E. R...[et al.]. (2015) Anuário Brasileiro da Fruticultura 2015. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2015. 104 p. Disponível em: <http://www.grupogaz.com.br/tratadas/eo_edicao/4/2015/03/20150301_106c8c2f1/pdf/4718_2015fruticultura.pdf>. Acesso em: 28 dez. 2015.

Reis HF, Bacchi LMA, Vieira CRYI, Silva VS (2011) Ocorrência de *Meloidogyne enterolobii* (sin. *M. mayaguensis*) em pomares de goiabeira no município de Ivinhema, Estado de Mato Grosso do Sul. Jaboticabal, **Revista Brasileira de Fruticultura** 33: 2: 676–679.

Ritzinger CHSP, Fancelli M (2006) Manejo integrado de nematoides na cultura da bananeira. Jaboticabal, **Revista Brasileira de Fruticultura** 28: 2: 331–338.

Robaina RR, Campos GS, Marinho CS, Souza RM, Bremenkamp CA (2015) Grafting guava on cattley guava resistant to *Meloidogyne enterolobii*. Santa Maria, **Ciência Rural** 45: 9: 1579–1584.

Rodríguez MG, Gómez L, Peteira B (2007) *Meloidogyne mayaguensis* Rammah y Hirschmann, plaga emergente para la agricultura tropical y subtropical. Havana, **Revista Protección Vegetal** 22: 3: 183–198.

Rossiter JGA (2007) **Potencialidade de genótipos de aceroleiras (*Malpighia emarginata* D. C.) quanto ao enraizamento e resistência a nematoide visando a obtenção de porta-enxerto**. 2007. 76f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE, Recife.

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

Rühlemann L, Schmidtke K (2015) Evaluation of monocropped and intercropped grain legumes for cover cropping in no-tillage and reduced tillage organic agriculture. Amsterdam, **European Journal of Agronomy** 65: 83–94.

Santos AV, Gomes CB (2011) Reação de Cultivares de Mamona a *Meloidogyne* spp. E Efeito dos Exsudatos Radiculares sobre *Meloidogyne enterolobii* e *M. graminicola*. **Nematologia Brasileira** 35: 1-2: 1-8.

Santos MDS, Petkowicz CLO, Netto ABP, Wosiacki G, Nogueira A, Carnei EBB (2007) Propriedades reológicas de doce em massa de araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial** 1: 2: 104-116.

Shami NJIE, Moreira EAM (2004) Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição** 17: 2: 227-236.

SILVA GS, ATAYDE SOBRINHO C, PEREIRA AL, SANTOS JM (2006) Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado do Piauí. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 3, p. 307–309.

SILVA GS, PEREIRA AL, ARAÚJO JRG, CARNEIRO RMDG (2008) Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no Estado do Maranhão. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 242–243.

SILVA RV, OLIVEIRA RDL (2010) Ocorrência de *Meloidogyne enterolobii* (sin. *M. mayaguensis*) em goiabeiras no Estado de Minas Gerais, Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 34, n. 3, p. 172–177.

SILVA SR, RODRIGUES KFD, SCARPARE FILHO JA (2011) **Propagação de árvores frutíferas**. Piracicaba: USP/ESALQ/Casa do Produtor Rural, 63 p.

Silva TA, Rocha Amorim EP, Costa JPV, Costa MGS e Santos DV (2016) Influência da cobertura morta e da adubação no controle da podridão radicular em mudas de citros (*Phytophthora nicotianae*). **Revista Ciência Agrícola** 14: 37-44.

SIQUEIRA KMS, FREITAS VM, ALMEIDA MRA, SANTOS MFA, CARES JA, TIGANO MS, CARNEIRO RMDG (2009) Detecção de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e mamoeiro no estado de Goiás, usando marcadores moleculares. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 4, p. 256–260.

Soares-Silva LH, Proença CEB (2008) A new species of *Psidium* L (Myrtaceae) from southern Brazil. London, **Botanical Journal of the Linnean Society** 158: 51–54.

Sobral M, Proença C, Souza M, Mazine F, Lucas E (2016) Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB10858>>. Acesso em 25 de fev. de 2016.

SOUZA PM, FERREIRA VR, PONCIANO NJ, BRITO MN (2008) Otimização econômica, sob condições de risco, para agricultores familiares das regiões

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

Norte e Noroeste do Estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Operacional**, v. 28, n. 1, p. 123-139.

Souza AG, Resende LV, Lima IP, Santos RM, Chalfun NNJ (2014) Variabilidade genética de acessos de araçazeiro e goiabeira suscetíveis e resistentes a *Meloidogyne enterolobii*. Santa Maria, **Ciência Rural** 44: 5: 822–829.

Souza HA, Natale W, Rozane DE (2011) Avaliação agrônômica da aplicação do resíduo da indústria processadora de goiabas em pomar comercial de goiabeiras. **Revista Brasileira Ciência do Solo** 35: 3: 969-979.

Tetsumura T, Ishimura S, Hidaka T, Hirano E, Uchida H, Kai Y, Kuroki S, Uchida Y, Honsho C (2015) Growth and production of adult Japanese persimmon (*Diospyros kaki*) trees grafted onto dwarfing rootstocks. Amsterdam, **Scientia Horticulturae** 187: 87–92.

TORRES GRC, COVELLO VN, SALES JÚNIOR RS, PEDROSA EMR, MOURA RM (2004) *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 570.

TORRES GRC, SALES JÚNIOR R, REHN VNC, PEDROSA EMR, MOURA RM (2005) Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado do Ceará. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 105–107.

Tucker CM, Cadotte MW, Carvalho SB, Davies TJ, Ferrier S, Fritz SA, ... and Mazel F (2016) A guide to phylogenetic metrics for conservation, community ecology and macroecology. **Biological Reviews**, v. 92: p. 698-715.

Vatansever R, Filiz E, Ozyigit II (2016) In silico identification and comparative analysis of molybdenum (Mo) transporter genes in plants. **Braz. J. of Bot** 39: 87-99. Doi: 10.1007/s40415-015-0217-z

Verli H (2014) **Bioinformática: da Biologia à Flexibilidade Molecular**. Editora SBBq, São Paulo, 292p.

Webb CO (2000) Exploring the phylogenetic structure of ecological communities: an example for rain forest trees. **American Naturalist** 156:145-155.

Webb CO, Ackerly DD, Kembel SW (2008) **Phylocom: software for the analysis of community phylogenetic structure and trait evolution**. Version 4.0.1. <http://www.phylodiversity.net/phylocom/>

Webb CO, Ackerly DD, Mcpeek MA, Donoghue MJ (2002) Phylogenies and community ecology. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 33, p. 475-505.

Westerich JN, Rosa JMO, Wilcken SRS (2011) Estudo Comparativo da Biologia de *Meloidogyne enterolobii* (= *M. mayaguensis*) e *Meloidogyne javanica* em tomateiros com gene Mi. **Summa phytopathol** 37: 1: 35-41.

Wikler C, Pedrosa-Macedo JH, Vitorino MD, Caxambú MG, Smith CW (2000) Strawberry guava (*Psidium cattleianum*) – prospects for biological control. In:

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL CONTROL OF WEEDS, X., 1999, Bozeman. Proceedings..., Bozeman: Neal. R. Spencer. p. 659–665.

Williamson VM, Hussey RS (1996) Nematode pathogenesis and resistance in plants. Rockville, **The Plant Cell** 8: 10: 1735–1745.

Williamson VM, Kumar A (2006) Nematode resistance in plants: the battle underground. Oxford, **Trends in Genetics** 22: 7: 396–403.

Williamson VM, Roberts PA (2009) **Mechanisms and genetics of resistance**. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. Root-knot nematodes. Wallingford, UK: CAB International. p. 301–325.

Wilson PG, O'brien MM, Heslewood MM, Quinn CJ (2005) Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a matk phylogeny. Austria, **Plant Systematics and Evolution** 251: 3-19.

Xu J, Peilei L, Qingpeng M, Hai L (2004) Characterization of *Meloidogyne* species from China using isozyme phenotypes and amplified mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphism. Dordrecht, **European Journal of Plant Pathology** 110: 309-315.

Zietemann C, Roberto SR (2007) Produção de mudas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) em diferentes substratos. Jaboticabal, **Revista Brasileira de Fruticultura** 29: 1: 137-142.

CAPÍTULO II

**COMPARAÇÃO ENTRE NÍVEIS DE INÓCULOS E ÉPOCAS DE
AVALIAÇÃO E VARIÁVEIS PARA SELEÇÃO DE *Psidium* spp.
VISANDO À RESISTÊNCIA A *Meloidogyne enterolobii***

Artigo a ser enviado para a revista Ciência Rural Qualis B1 – Agrárias

1 **Comparação entre níveis de inóculos, épocas de avaliação e variáveis para seleção**
2 **de *Psidium* spp. visando à resistência a *Meloidogyne enterolobii***

3 Jackeline Gadé de Araujo Rossiter^{1,2*}, Alane Silva Guimarães², Islan Diego Espíndula
4 de Carvalho^{1,2}, Fabian Santana Silva^{1,2}, Edilton de Albuquerque Cavalcanti Junior^{1,2},
5 Rômulo Maciel de Moraes Filho^{1,2} e Luiza Suely Semen Martins^{1,3}

6 **RESUMO**

7 Várias seleções (*screenings*) de *Psidium* spp. para resistência a *Meloidogyne* spp.
8 foram publicadas nos últimos anos sem a definição de parâmetros para tais estudos, como
9 nível de inóculo, época de avaliação (período de tempo após a inoculação) e quantidade
10 de substrato por planta, dentre outras variáveis. O objetivo deste trabalho foi avaliar
11 diferentes níveis de inóculo de *M. enterolobii* e de substratos, bem como épocas de
12 avaliação, em *screenings* de *Psidium* spp. As avaliações ocorreram aos 30 (E1), 60 (E2),
13 90 (E3), 120 (E4) e 150 (E5) dias após a inoculação, em dois recipientes com volumes
14 diferentes (R1 e R2), quatro níveis de inóculo (I1, I2, I3 e I4), com seis repetições por
15 tratamento. Cada parcela experimental foi constituída por uma planta, totalizando 240
16 parcelas as quais foram delineadas em DIC (inteiramente casualizado). De acordo com o
17 teste F a 1% de probabilidade houve diferença significativa para todas as fontes de
18 variação, inclusive para as interações, ou seja, todas as fontes de variação foram
19 influenciadas pelas outras fontes. De acordo com o desdobramento Inóculo dentro de
20 Recipiente/Época no *screening* de níveis de inóculo, pode-se concluir que o melhor
21 recipiente para a seleção de *Psidium* para resistência ao *Meloidogyne enterolobii* é o saco
22 com capacidade de 864cm³, a melhor época de avaliação é aos 81 dias após a inoculação
23 e a inoculação com 2000 ovos apresenta maior eficiência, concluindo-se que a redução
24 no número de inóculo e no tempo de avaliação agilizarão os resultados das pesquisas
25 desenvolvidas com o patógeno em questão.

26 **Palavras-chave:** Meloidoginose, Goiaba, Patogenicidade, Araçá.

27 ¹Pós-Graduação da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de
28 Agronomia, UFRPE, Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos – CEP: 52171-
29 900. Recife, Pernambuco, Brasil. ²Departamento de Agronomia, UFRPE, Rua Dom
30 Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos – CEP: 52171- 900. Recife, Pernambuco, Brasil.

31 ³Departamento de Biologia, UFRPE, Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos –
32 CEP: 52171-900. Recife, Pernambuco, Brasil. *Autor para correspondência:
33 iislandiego@hotmail.com

34 **ABSTRACT**

35 Several selections (screenings) of *Psidium* spp. for resistance to *Meloidogyne* spp. were
36 published in the last years, without the definition of parameters for such studies, such as
37 inoculum level, evaluation period (time after inoculation) and amount of substrate per
38 plant, among other variables. The objective of this work was to evaluate different
39 inoculum levels of *M. enterolobii*, periods of evaluation and comparing two levels of
40 substrates, in screenings of *Psidium* spp. The evaluations occurred at 30 (E1), 60 (E2), 90
41 (E3), 120 (E4) and 150 (E5) days after inoculation, in two containers with different
42 volumes (R1 and R2), four levels of inoculum I1, I2, I3 and I4) with six replicates. Each
43 experimental plot consisted of one plant, totaling 240 plots which were delineated in DIC
44 (completely randomized). According to the F test at 1% probability, there was a
45 significant difference for all sources of variation, including for the interactions, that is, all
46 sources of variation were influenced by the other sources. According to the Inoculum
47 deployment within Container / Epoch in the screening of inoculum levels, it can be
48 concluded that the best container for the selection of *Psidium* resistance to *Meloidogyne*
49 *enterolobii* is the bag, with capacity of 864cm³, the best evaluation time of *Psidium*
50 resistance to *Meloidogyne enterolobii* is at 81st day after inoculation and the inoculation
51 with 2000 eggs presents greater efficiency in the selection of *Psidium* as resistance to
52 *Meloidogyne enterolobii*. Thus, the reduction in the number of inoculum and the reduced
53 evaluation times will speed up the results of the researches developed with the pathogen
54 in question.

55 **Key words:** Guava, Araçá, Meloidoginose, Pathogenicity.

56

57 **INTRODUÇÃO**

58 No Brasil, o nematoide *Meloidogyne enterolobii* associado ao fungo *Fusarium*
59 *solani* são considerados como os principais agentes etiológicos do declínio da goiabeira
60 (*Psidium guajava* L.) (GOMES et al., 2010). A área afetada pelo nematóide em vários
61 Estados do Brasil supera os 5.000 hectares e o prejuízo econômico direto à goiabicultura
62 foi calculado em, pelo menos, R\$ 112 milhões anualmente (PEREIRA et al., 2009). Além
63 desta cultura, *M. enterolobii* causa vários danos em outros cultivos, como hortaliças, fumo
64 e soja (ALMEIDA et al., 2008; GOMES et al., 2008). Várias estratégias de controle desse
65 nematoide têm sido investigadas, como o controle biológico com fungos, bactéria e

66 nematóides entomopatogênicos, pousio e o uso de nematicidas (CASASSA et al., 1996;
67 GUEYE et al., 1997; DUPONNOIS et al., 1998; MOREIRA et al., 2001; BRITO et al.,
68 2004; CARNEIRO et al., 2004; SOUZA et al., 2006; SOARES et al., 2007; ACEVEDO,
69 2008). Mesmo que GOMES et al. (2010) tenham obtido sucesso no convívio com o
70 referido nematoide em pomares comerciais mediante adubações orgânicas e químicas, a
71 resistência genética deve ser incentivada como a estratégia prioritária e eficiente.

72 Várias seleções (*screenings*) de *Psidium* spp. para resistência a *Meloidogyne* spp.
73 foram publicadas nos últimos anos, mas observa-se a ausência da definição de parâmetros
74 para tais estudos, como por exemplo: o estágio fenológico das plantas a serem inoculadas,
75 nível de inóculo, época de avaliação (período de tempo após a inoculação), e efeito das
76 condições climáticas, principalmente a temperatura ambiente. CUADRA & QUINCOSA
77 (1982) e GONZALEZ & SOURD (1982) avaliaram a “tolerância” de *Psidium* spp. a
78 *Meloidogyne* spp. apenas pelo “grau de infestação visual”. MARANHÃO et al., (2001,
79 2003), como mesmo propósito, inocularam 12 a 15 mil ovos/planta, e 60, 70 e 90 dias
80 após eles aferiram os índices de galhas e de massas de ovos, número de ovos/massa de
81 ovos, população final do nematoide (Pf), fator de reprodução (FR= Pf / inóculo) e
82 porcentagem de redução do FR em relação a um padrão de suscetibilidade. CARNEIRO
83 et al., (2007) inocularam 10 mil ovos/planta e oito meses após calcularam o índice de
84 galhas ou massas de ovos e FR. Os genótipos considerados resistentes receberam índice
85 de galhas ≤ 2 e fator de reprodução < 1 . BURLA et al., (2007) inoculou *Psidium* spp. com
86 5.000 ovos/planta e quantificaram aos 135 dias após os números de galhas/sistema
87 radicular e de ovos/grama de raiz. Esse autor considera que um genótipo de arcaça
88 medianamente resistente deve apresentar número de ovos/g de raiz de 6,75% a partir do
89 padrão de suscetibilidade da cultivar ‘Paluma’.

90 HUSSEY & JANSSEN (2002), ressaltam a importância da padronização
91 metodológica em *screenings* no que concerne às condições ambientais, nível de inóculo
92 e variável(is) analisada(s) (número de galhas, número de ovos, fator de reprodução,
93 população final) permitindo a comparação entre genótipos e entre ensaios conduzidos em
94 diferentes épocas.

95 O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes níveis de inóculo *M. enterolobii*,
96 épocas de avaliação e variáveis a serem utilizadas em *screenings* de *Psidium* spp., para
97 padronizar os procedimentos metodológicos.

98

99 MATERIAL E MÉTODOS

100 Para o experimento em questão foram usadas mudas de goiabeira comercial
101 ‘Paluma’, produzidas na casa de vegetação da Área de Fitotecnia, do Departamento de
102 Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no Brasil, a partir de sementes
103 comerciais em substrato comercial a base de casca de *Pinus*. Ao atingirem o estágio de
104 quatro pares de folhas definitivas as plantas foram transplantadas da bandeja de
105 germinação de polipropileno de 128 células para tubetes de polipropileno atóxico com
106 capacidade de 280cm³ (R1), e para sacos pretos de polietileno com volume de 864cm³
107 (R2). Após alcançarem tamanho médio de 10 cm de altura as mesmas foram inoculadas
108 com as seguintes quantidades de ovos de *M. enterolobii* por planta: 2.000 (nível I1),
109 3.500 (nível I2), 5.000 (nível I3) e 6.500 (nível I4).

110 Os inóculos foram obtidos de material cedidos pela Embrapa Semi-árido –
111 CPATSA, Petrolina- PE, sendo mantidos em vasos com capacidade de 3L, inoculados em
112 plantas do tomateiro Santa Clara (*Solanum lycopersicon* Mill). Após a extração e aferição
113 da quantidade de ovos do *M. enterolobii* por mL da suspensão, a mesma foi depositada
114 em quatro pequenos furos de 5 cm no substrato, distanciado do colo da planta, com auxílio
115 de uma pipeta de graduação automática (Macroset). Após a inoculação, a irrigação foi
116 suspensa pelo período de 24 horas, evitando o lixiviamento dos ovos em suspensão.

117 Ao longo dos ensaios, as plantas receberam regas diárias controladas para não
118 lixiviar o patógeno, tratos culturais e solução nutritiva formulada na proporção de 20 g de
119 Sulfato de Magnésio (MgSO₄), 37,5 g de Nitrato de Cálcio (Ca(NO₃)₂), 22,5 g de Nitrato
120 de Potássio (KNO₃), 1,25 g de Quelatec A-Z, 10 g de MAP e 1,25 g de Ultraferro®,
121 dissolvidos em 50 L de água, a cada 15 dias. Os ensaios foram conduzidos em casa de
122 vegetação com sistema de irrigação tipo nebulização controlada. As análises da
123 patogenicidade foram realizadas no laboratório de Extração de Nematologia da Área de
124 Fitopatologia e a contagem de ovos foi realizada no Laboratório de Biotecnologia Vegetal
125 da Área de Fitotecnia, ambos do Departamento de Agronomia da UFRPE.

126 As avaliações ocorreram aos 30 (época E1), 60 (época E2), 90 (época E3), 120
127 (época E4) e 150 (época E5) dias após a inoculação do patógeno, em dois recipientes (R1
128 e R2), quatro níveis de inóculo (I1, I2, I3 e I4), com seis repetições por tratamento. Cada
129 parcela experimental foi constituída por uma planta, totalizando 240 parcelas as quais
130 foram delineadas em DIC (inteiramente casualizado).

131 A avaliação foi iniciada com a retirada das raízes das plantas, que foram lavadas
132 e posteriormente foi realizada a contagem e estimativa do índice de galhas (IG)
133 utilizando-se escala de notas do International *Meloidogyne* Project (IMP), sugerida por
134 TAYLOR & SASSER (1978). As reações dos hospedeiros foram enquadradas nos
135 parâmetros estabelecidos por HARTMAN & SASSER (1985), de acordo com a escala: 0
136 (ausência de galhas ou massa de ovos), 1 (1-2 galhas ou massa de ovos), 2 (3-10 galhas
137 ou massa de ovos), 3 (11-30 galhas ou massa de ovos), 4 (31-100 galhas ou massa de
138 ovos) e 5 (> 100 galhas ou massa de ovos). A extração de ovos foi realizada cortando as
139 raízes em pequenos segmentos de 1-2 cm, seguindo-se a técnica descrita por HUSSEY &
140 BARKER (1973), e a contagem dos ovos foi feita, em Lâmina de Peters com o auxílio de
141 microscópio óptico, modelo Meiji, para obter o resultado da população final (PF). O fator
142 de reprodução (FR), conforme OOSTENBRINK (1966), foi estimado pelo quociente
143 Pf/Pi (Pf = população final e Pi = população inicial). Foram realizadas análises de
144 variância e regressão polinomial para as épocas e o desdobramento das interações
145 (Recipiente/Época x Inóculo e Recipiente / Inóculo x Época) utilizando o software Genes
146 (CRUZ, 2006).

147

148 RESULTADOS E DISCUSSÕES

149 De acordo com o teste F, a 1% de probabilidade houveram diferenças
150 significativas para todas as fontes de variação, inclusive para as interações (Tabela 1).

151 Considerando a comparação do número de Galhas versus Número de Ovos
152 (Figura 1) no desdobramento Recipiente/Época, pode-se concluir para o índice de galhas
153 (IG) mediante a Figura 1, na qual verificou que o R1/E1 houve aumento do número de
154 galhas de 2.000 até 5.000 ovos iniciais com decréscimo a partir desse, assim como para
155 o R2/E2, podendo essas combinações de tratamento serem representadas pelas equações
156 respectivas $Y = -0,0001x^2 + 0,0009x + 0,982$; e $Y = -0,000001x^2 + 0,00091x + 1,61$.
157 Para o R1/E2 e R2/E1 o índice de galhas foi crescente em todos os números iniciais de
158 ovos, sendo representadas pelas equações $Y = 0,0002x + 2,57$; e $Y = 0,00041x + 2,044$.
159 Para o R1/E3 houve um aumento do número de galhas de 2.000 a 3.500 ovos com
160 decréscimo de 3.500 a 5.000 ovos seguido por crescimento, sendo representada pela
161 equação $Y = 0,00001x^3 - 0,000001x^2 - 0,0039x - 1,751$. O R2/E3 apresentou número de
162 galhas decrescente em todos os números de ovos iniciais, sendo representada pela
163 equação $Y = -0,000001x^2 - 0,000067x + 5,12$. Considerando-se as épocas E4 e E5 nos

164 dois recipientes não apresentaram valores com diferença significativa, com nota igual a
165 cinco (>100 galhas) (Tabela 2 e Figura 1).

166 O desdobramento Inóculo dentro de Recipiente/Época para o fator de reprodução
167 (FR), visualizado na Tabela 3 e confirmado na demonstração da Figura 2, para o
168 recipiente R1, a interação R1/E1 apresentou-se estável, apresentando leves alterações
169 lineares para o fator de reprodução (FR), sendo representada pela equação $Y = -$
170 $0,000014x + 0,146$. Para o R1/E2 mostrou redução de 2.000 a 3.500, acréscimo de 3.500
171 a 5.000 e posterior decréscimo da quantidade de ovos iniciais, sendo representada pela
172 equação $Y = - 0,000001x^3 + 0,000001x^2 - 0,0054x + 8,436$. O R1/E3 apresentou um
173 grande decréscimo de 2.000 a 3.500 ovos iniciais e um decréscimo linear pouco acentuado
174 de 3.500 a 6.500 ovos, sendo representada pela equação $Y = 0,000001x^2 - 0,00172x +$
175 $5,634$. O R1/E4 e o R1/E5 apresentaram decréscimo linear de 2.000 a 6.500 ovos iniciais,
176 podendo essas combinações de tratamento serem representadas pelas equações
177 respectivas $Y = - 0,000001x^2 - 0,00039x + 4,013$; e $Y = - 0,00021x + 1,77$.

178 Para o desdobramento Inóculo dentro de Recipiente/Época para o fator de
179 reprodução (FR), para o recipiente R2, conforme demonstrado na Figura 3, no R2/E1
180 houve um decréscimo pouco acentuado de 2.000 a 3.500 ovos iniciais com posterior
181 ligeiro crescimento até 6.500 ovos, podendo essas combinações de tratamento ser
182 representada pela equação $Y = 0,000001x^2 - 0,00095x + 1,98$. O R2/E2 apresentou
183 crescimento acentuado de 2.000 a 3.500 ovos iniciais com decréscimo até 6.500 ovos,
184 sendo representada pela equação $Y = 0,000001x^3 - 0,000007x^2 + 0,028x - 29,41$. O
185 R2/E3, R2/E4 e R2/E5 mostraram decréscimo de 2.000 a 6.500 ovos iniciais, podendo
186 essas combinações de tratamento serem representadas pelas equações respectivas $Y =$
187 $0,000001x^2 - 0,0013x + 5,54$; $Y = - 0,000456x + 3,89$; $Y = - 0,00018x + 1,58$ (Tabela 3
188 e Figura 3).

189 A Figura 4 demonstra que o número de galhas (IG) foi crescente linearmente para
190 as épocas. O fator de reprodução (FR) apresentou crescimento de 30 a 60 dias, mantendo-
191 se constante até os 90 dias, com posterior decréscimo até os 150 dias.

192 A infecção das raízes de *Psidium spp.*, por *M. enterolobii*, é desencadeada por
193 uma síndrome que se caracteriza pelo declínio das plantas com as raízes infectadas
194 apresentando muitas galhas, necrose generalizada e redução drástica das radículas,
195 culminando com a morte das mesmas (MARTINS, et al., 2013). Houveram várias
196 seleções de acessos de goiabeiras e “araçazeiros” (*Psidium spp.*) que são

197 filogeneticamente resistentes ao *M. enterolobii*. Nestes estudos, os autores utilizaram uma
198 vasta gama de metodologia e também critérios diferentes para classificar os acessos como
199 resistentes ou suscetíveis aos nematoides, incluindo a determinação dos níveis de inóculo.
200 De acordo com Burla et al., (2010), níveis de inóculo de 500 a 2.000 ovos por planta são
201 suficientes para seleções de acessos, ao invés de níveis mais altos de inóculo, como
202 15.000 ovos / planta, usados em alguns estudos. Quanto ao tempo de avaliação, segundo
203 os mesmos autores, os acessos devem ser avaliados 135-180 dias após a inoculação.
204 Entretanto, os resultados deste trabalho demonstraram que 81 dias após a inoculação, com
205 2000 ovos por planta, são suficientes para a classificar os acessos quanto a resistência
206 e/ou susceptibilidade, mostraram que os 180 dias (cerca de seis meses) para avaliação do
207 parasitismo, usados anteriormente em pesquisas deste tipo, pode ser reduzido para pouco
208 menos de três meses.

209 Considerando o volume disponível de substrato por planta, constatou-se que os
210 sacos com volume de 864 cm³ (R2) foi mais propício para o desenvolvimento do
211 parasitismo, justificando-se pelo fato de que esse volume, comparado com o outro de 280
212 cm³ (R2), propiciou um maior crescimento das raízes e conseqüentemente, um maior
213 número das galhas poderam ser desenvolvidas, elevando assim o índice de infecção.

214 Oliveira et al. (2019), encontrou resultados similares com 2000 ovos/planta
215 trabalhando com recipientes de 3000 cm³, considerando dosagens menores não eficientes.
216 Esses autores evidenciam que o volume do recipiente é fator determinante para a dosagem
217 ideal, em função do crescimento das raízes e desenvolvimento da planta, colaborando
218 com a concorrência do patógeno por espaço no meio.

219 A avaliação dos testes de parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em *Psidium* spp,
220 podem ser efetivados usando-se um número menor de inóculos (2000 ovos/planta),
221 comparando-e com pesquisasdesenvolvidas anteriormente, utilizando-se sacos plásticos
222 com volume de 864 cm³, em um período de apenas três meses.

223

224 CONCLUSÕES

225 Na avaliação da patogenicidade, número de ovos de *Meloidogyne enterolobii* a ser
226 inoculados por planta, de *Psidium*ssp, pode ser bem menor do que o que vinha sendo
227 utilizado até então e, conseqüentemente, pode-se ter resultados em tempo muito menores
228 de experimentação.

229

230 **AGRADECIMENTOS**

231 O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento
232 de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, e do
233 Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Melhoramento Genético de Plantas da
234 UFRPE.

235

236 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

237 ACEVEDO, J.P.M. **Estudo das interações entre o fitonematóide *Meloidogyne***
238 ***mayaguensis* (Tylenchida: Meloidoginidae) e nematóides entomopatogênicos**
239 **(Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae)** Tese (Doutorado em Produção
240 Vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense
241 Darcy Ribeiro - UENF, 109p. 2008.

242 ALMEIDA, C.D.S.; SOUZA, D.S.L.; SARTO, R.P.; FIRMINO, A.A.P.; SILVA, T.S.;
243 MAGALHÃES, J.C.C.; SÁ, M.F.G.; ROCHA, T.L. Fracionamento de extrato aquoso de
244 sementes de *Crotalaria spectabilis* efetivo no controle de juvenis de segundo estágio (J2)
245 de *Meloidogyne incognita*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008.
246 10 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. **Circular Técnica**, 78).

247 BRITO, J.A.; POWERS, T.O.; MULLIN, P.G.; INSERRA, R.N.; DICKSON, D.W.
248 Morphological and molecular characterization of *Meloidogyne mayaguensis* from
249 Florida. **Journal of Nematology**, v.36, p.232-240, 2004.

250 BURLA, R.S.; SOUZA, R.M.; GONCALVES J.R.E.; MOREIRA, F.O.M. Reação de
251 acessos de *Psidium* spp. a *Meloidogyne mayaguensis*. **Nematologia Brasileira**, v.31,
252 p.127, 2007.

253 BURLA, R.S.; SOUZA, R.M.; GOMES, V.M.; CORRÊA, F.M. Comparação entre níveis
254 de inóculo, épocas de avaliação e variáveis para seleção de *Psidium* spp. visando à
255 resistência a *Meloidogyne enterolobii*. **Nematologia Brasileira**, v.34, p.82-90, 2010.

256 CARNEIRO, R. M. D. G.; CIROTTO, P. A.; QUINTANILHA, A. P.; SILVA, D. S.;
257 CARNEIRO, R. G. Resistance to *Meloidogyne mayaguensis* in *Psidium* spp. Accessions
258 and their grafting compatibility with *P. guajava* cv. Paluma. **Fitopatologia Brasileira**,
259 Brasília, v. 32, n. 4, p. 281–284, 2007.

260 CARNEIRO, R. M. D. G.; TIGANO, M. S.; RANDIG, O.; ALMEIDA, M. R. A.;
261 SARAH, J. L. Identification and genetic diversity of *Meloidogyne* spp. (Tylenchida:

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

- 262 Meloidogynidae) on coffee from Brazil, Central America and Hawaii. **Nematology**, v. 6,
263 p. 287-298, 2004.
- 264 CASASSA, A.M.; MATHEUS, J.M.; CROZZOH, R.; CASANOVA, A. Control químico
265 de *Meloidogyne* spp. en el cultivo de guayabo (*Psidium guajava* L*) en el Municipio
266 Mara del Estado Zulia, Venezuela. **Revista de la Facultad de Agronomía**, v.13 p.303-
267 312, 1996.
- 268 CRUZ, C. D. **Programa Genes** - Estatística Experimental e Matrizes. 1. ed. Viçosa:
269 Editora UFV, 2006. v. 1. 285 p.
- 270 CUADRA, R.; QUINCOSA, A. Comportamiento de diferentes especies de *Psidium*
271 como patrones para guayabos resistentes a *Meloidogyne*. **Ciencias de la Agricultura**
272 (Cuba) 13:19-26. 1982.
- 273 DUPONNOIS, R., AMADOU, M.B.; MATEILLE, T. Effects of some
274 rhizospher_bacteria for the biocontrol of nematodes of the genus *Meloidogyne* with
275 *Arthrobotrys oligospora*. **Fundamental and Applied Nematology** 2:157-163. 1998.
- 276 GOMES, C. B.; COUTO, M. E. O.; CARNEIRO, R. M. D. G. Registro de ocorrência de
277 *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e fumo no Sul do Brasil. **Nematologia**
278 **Brasileira**, Piracicaba, v. 32, n. 3, p. 244–247, 2008.
- 279 GOMES, V. M.; SOUZA, R. M.; CORRÊA, F. M.; DOLINSKI, C. Management of
280 *Meloidogyne mayaguensis* in commercial guava orchards with chemical fertilization and
281 organic amendments. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 34, n. 1, p. 23–30, 2010.
- 282 GONZALEZ, G.; SOURD, F. ensayo de tres especies de *Psidium* y su tolerancia a los
283 nematodos. **Ciencia y Técnica em la Agricultura**, Citricos y otros frutales. v.5, n.2, p
284 13-25, 1982.
- 285 GUEYE, M.; DUPONNOIS, R.; SAMB, P.I.; MATEILLE, T. Study on 3 strains of
286 *Arthrobotrys oligospora*: biological characterization and effects on *Meloidogyne*
287 *mayaguensis* parasitic on tomato in Senegal. **Tropicultura**, v.15, p.109-115, 1997.
- 288 HARTMAN, K.M.; SASSER, J.N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of
289 differential host test and perineal-pattern morphology. In: Barker, K.R, Carter, C.C. &
290 Sasser, J.N. (Eds.) **Advanced Treatise on Meloidogyne**, Vol. II. Methodology. Raleigh
291 NC. North Carolina State University. 1985. p. 69-77.
- 292 HUSSEY, R.S.; BARKER, K.R. A comparison of methods of collecting inoculated of
293 *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v.57,
294 n.4, p.1025-1028, 1973.

- 295 HUSSEY, RS; JANSSEN, GJW. Root-knot nematode: *Meloidogyne* species. In: STARR
296 JL; COOK R; BRIDGE J (eds) Plant resistance to parasitic nematodes. CAB
297 International. Wallingford, UK. 43-70. 2002.
- 298 MARANHÃO, S.R.V.L.; MOURA, R.M.; PEDROZA, E.M.R. Reação de indivíduos
299 segregantes de araçazeiro a *Meloidogyne incognita* raça 1, *M. javanica* e *M.*
300 *mayaguensis*. **Nematologia Brasileira**, v.27, p.173-178, 2003.
- 301 MARANHÃO, S.R.V.L.; MOURA, R.M.; PEDROZA, E.M.R. Reação de indivíduos
302 segregantes de goiabeira a *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. mayaguensis*.
303 **Nematologia Brasileira**, v.25, p. 191-195, 2001.
- 304 MARTINS, L.S.S.; MUSSER, R.S.; SOUZA, A.G.; RESENDE, L.V.; MALUF, W.R.
305 Parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em espécies de Myrtaceae. **Revista Brasileira**
306 **de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 2, p. 477–484, 2013.
- 307 MOREIRA, W.A.; HENRIQUES NETO, D. Attack by gall nematode (*Meloidogyne*
308 *mayaguensis*) to seedlings of guava obtained from cuttings and grafting. Embrapa Semi-
309 Árido. **Comunicado Técnico**, n. 107, 4p. 2001.
- 310 OLIVEIRA, P.G.; QUEIRÓZ, M.A.; CASTRO, J.M.C.; RIBEIRO, J.M.; OLIVEIRA,
311 R.S.; SILVA, M.J.L. Reaction of *Psidium spp.* accessions to different levels of
312 inoculation with *Meloidogyne enterolobii*. **Revista Caatinga**, 32(2), 419-428. Epub July
313 18, 2019. <https://dx.doi.org/10.1590/1983-21252019v32n215rc>.
- 314 OOSTENBRINK, M. Major characteristic of the relation between nematodes and plants.
315 Wageningen: Medelingen Landbowhogeschool, 1966. p.46.
- 316 PEREIRA, F.O.M.; SOUZA, R.M.; SOUZA, P.M.; DOLINSKI, C.; SANTOS, G.K.
317 Estimativa do impacto econômico e social direto de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura
318 da goiaba no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, n. 2, p. 176–181, 2009.
- 319 SOARES, P.L.M.; ALMEIDA, E.J.; SILVA, A.R.; BARBOSA, B.F.F.; e SANTOS, J.M.
320 Novos registros de *Meloidogyne mayaguensis* no Brasil. **Nematologia Brasileira** 31: 45.
321 2007.
- 322 SOUZA, R. M.; NOGUEIRA, M. S.; LIMA, I. M.; MELARATO, E M.; et al. Manejo de
323 nematoides das galhas da goiabeira em São João da Barra (RJ) e relato de novos
324 hospedeiros. **Nematologia Brasileira** 30: 165-169. 2006.
- 325 TAYLOR, A.L.; SASSER, J.N. Biology identification and controlo f root-knot
326 nematodes (*Meloidogyne* species). Raleigh: North Carolina State University Graphics,
327 111p. 1978.

328 **Tabela 1.** Análise de variância da comparação entre níveis de inoculo, épocas de
 329 avaliação para seleção de *Psidium* spp. visando à resistência a *Meloidogyne enterolobii*.
 330 UFRPE, Recife-PE, 2019

Fontes de Variação	GL	QM	
		IG	FR
Recipiente (R)	1	0,974**	1,122**
Época (E)	4	1,506**	10,713**
Inóculo (I)	3	0,218**	2,739**
R x E	4	0,269**	0,455**
R x I	3	0,009 ^{ns}	0,188**
E x I	12	0,662**	0,429**
R x E x I	12	0,043**	0,342**
Resíduo	200	0,002**	0,027**
C.V. (%)		6,08	14,92

331 Legenda: GL= Graus de liberdade; QM= Quadrado médio; IG= Índice de galhas; FR= Fator de
 332 reprodução; C.V.=Coeficiente de variação. ** - Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F;
 333 ^{ns} - Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

334 **Tabela 2.** Desdobramento dos recipientes dentro das épocas de avaliação para o índice
 335 de galhas (IG) no parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em *Psidium* spp. UFRPE,
 336 Recife-PE, 2019

Índice de Galhas (IG)						
Recipiente/ Época	Escala de Notas (0-5)				Equação	R ² (%)
	I1	I2	I3	I4		
R1/E1	2,60	3,34	3,65	3,55	$Y = -0,0001x^2 + 0,0009x + 0,982$	90,84
R1/E2	2,96	3,27	3,56	3,87	$Y = 0,0002x + 2,57$	85,26
R1/E3	2,83	3,33	3,17	4,00	$Y = 0,00001x^3 - 0,000001x^2 - 0,0039x - 1,75$	100
R1/E4	4,66	4,50	4,66	4,66	-	-
R1/E5	5,00	5,00	5,00	5,00	-	-
R2/E1	2,86	3,48	4,10	4,72	$Y = 0,00041x + 2,044$	86,92
R2/E2	3,05	3,65	3,84	3,61	$Y = -0,000001x^2 + 0,00091x + 1,61$	83,39
R2/E3	5,00	4,83	4,83	4,66	$Y = -0,000001x^2 - 0,000067x + 5,12$	90,00
R2/E4	5,00	5,00	5,00	5,00	-	-
R2/E5	5,00	5,00	5,00	5,00	-	-

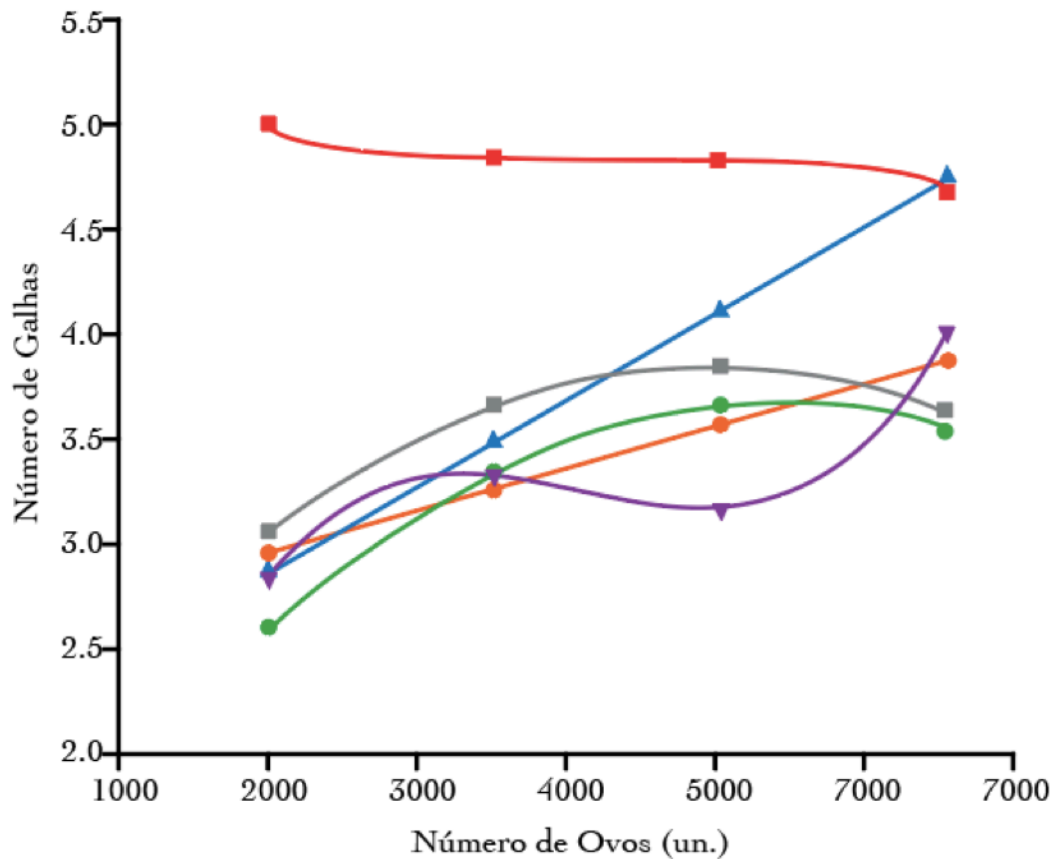
337 Legenda: R1= Recipiente 280³; R2= Recipiente 864³; E1= Época 30 dias; E2= Época 60 dias;
 338 E3= Época 90 dias; E4= Época 120 dias; E5= Época 150 dias; I1= Inóculo 2000 ovos; I2= Inóculo
 339 3500 ovos; I3= Inóculo 5000 ovos; I4= Inóculo 6500 ovos; Y= Inóculo final; x= Inóculo inicial.

340 **Tabela 3.** Desdobramento dos recipientes dentro das épocas para o fator de reprodução
 341 (FR) no parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em *Psidium* spp. UFRPE, Recife-PE,
 342 2019

Fator de Reprodução (FR)						
Recipiente/ Época	I1	I2	I3	I4	Equação	R ² (%)
R1/E1	0,117	0,103	0,065	0,058	$Y = -0,000014x + 0,146$	92,99
R1/E2	2,21	1,66	2,18	1,53	$= -0,000001x^3 + 0,000001x^2 - 0,0054x + 8,41$	100,00
R1/E3	2,88	1,31	1,15	0,98	$Y = 0,000001x^2 - 0,00172x + 5,634$	95,70
R1/E4	3,21	2,56	1,89	1,19	$Y = -0,000001x^2 - 0,00039x + 4,013$	83,19
R1/E5	1,35	1,03	0,73	0,42	$Y = -0,00021x + 1,77$	80,24
R2/E1	0,53	0,048	0,086	0,642	$Y = 0,000001x^2 - 0,00095x + 1,98$	98,85
R2/E2	3,33	6,57	2,53	1,35	$Y = 0,000001x^3 - 0,000007x^2 + 0,028x - 29,41$	100,00
R2/E3	3,31	2,16	1,43	1,17	$Y = 0,000001x^2 - 0,0013x + 5,54$	99,69
R2/E4	3,25	1,92	1,51	1,12	$Y = -0,000456x + 3,89$	89,95
R2/E5	1,22	0,95	0,67	0,40	$Y = -0,00018x + 1,58$	94,99

343 Legenda: R1= Recipiente 280³; R2= Recipiente 864³; E1= Época 30 dias; E2= Época 60 dias;
 344 E3= Época 90 dias; E4= Época 120 dias; E5= Época 150 dias; I1= Inóculo 2000 ovos; I2= Inóculo
 345 3500 ovos; I3= Inóculo 5000 ovos; I4= Inóculo 6500 ovos; Y= Inóculo final; x= Inóculo inicial.

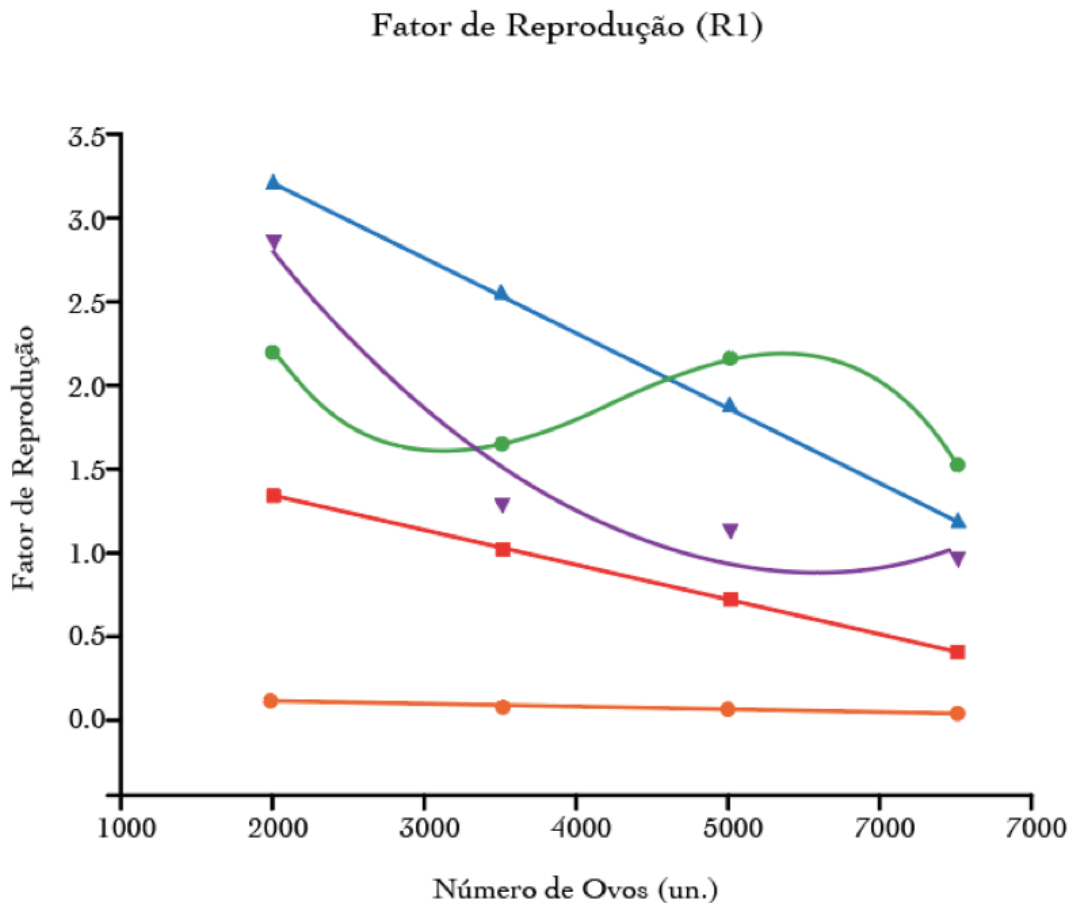
Número de Galhas (R1 e R2)



- R1/E1 $Y=0,0001x^2 + 0,0009x + 0,982$ ($R^2=90,84\%$)
- R1/E2 $Y=0,0001x + 2,57$ ($R^2=85,26\%$)
- ▼ R1/E3 $Y=0,0001x^3 - 0,000001x^2 - 0,0039x - 1,751$ ($R^2=100\%$)
- ▲ R2/E1 $Y=0,00041x + 2,044$ ($R^2=86,92\%$)
- R2/E2 $Y=0,000001x^2 + 0,00091x + 1,61$ ($R^2=83,39\%$)
- R2/E3 $Y=0,000001x^2 + 0,000067x + 5,122$ ($R^2=90,00\%$)

346
347
348
349

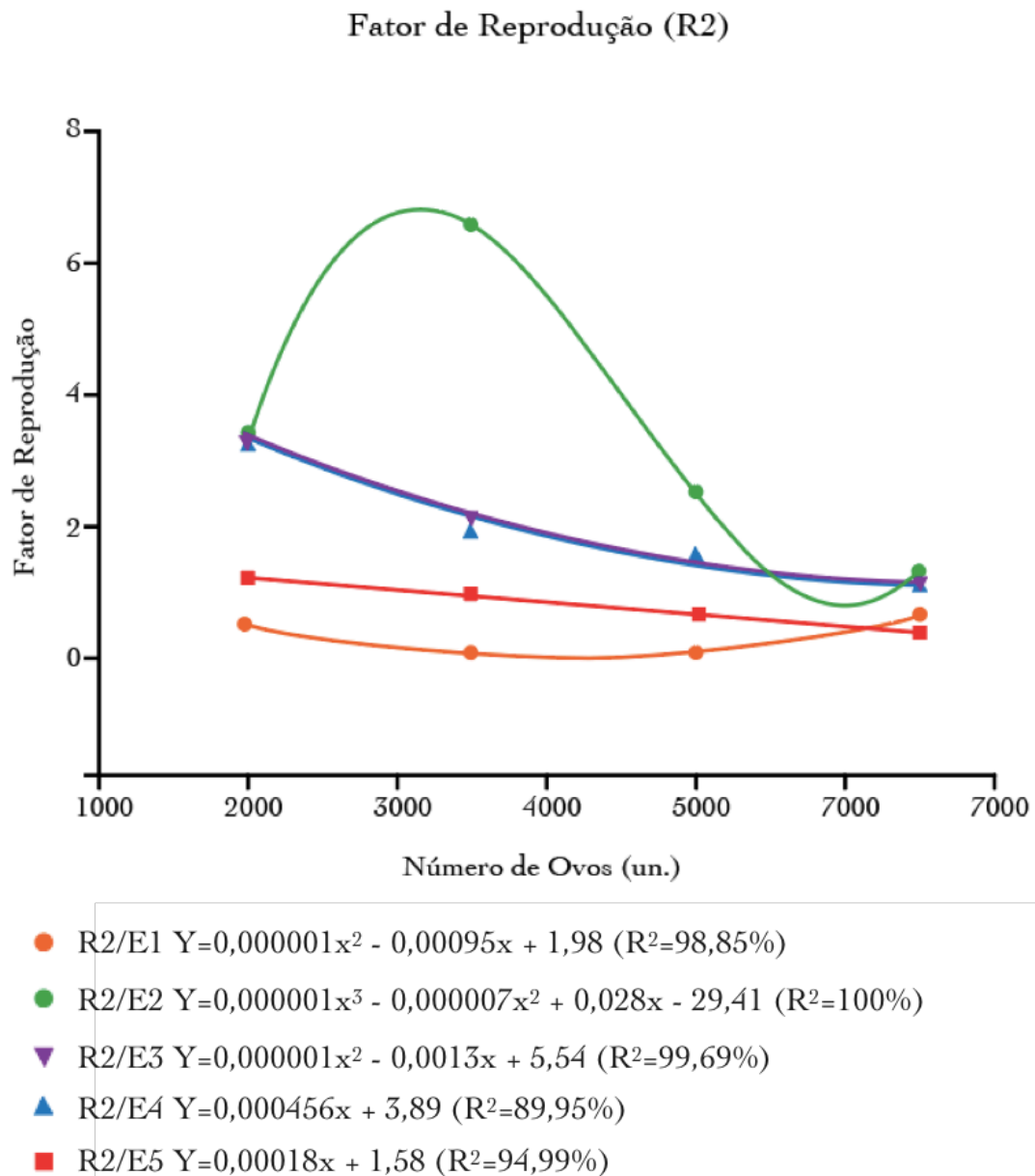
Figura 1. Número de galhas em função do número inicial de ovos nos recipientes dentro das épocas de avaliação para o índice de galhas (IG) no parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em *Psidium* spp.



- R1/E1 $Y=0,000014x + 0,146$ ($R^2=92,99\%$)
- R1/E2 $Y=0,000001x^3 + 0,000001x^2 - 0,0054x + 8,43$ ($R^2=100\%$)
- ▼ R1/E3 $Y=0,000001x^2 - 0,00172x + 5,634$ ($R^2=95,70\%$)
- ▲ R1/E4 $Y=0,000001x^2 - 0,00039x + 4,013$ ($R^2=83,19\%$)
- R1/E5 $Y=0,00021x + 1,77$ ($R^2=80,24\%$)

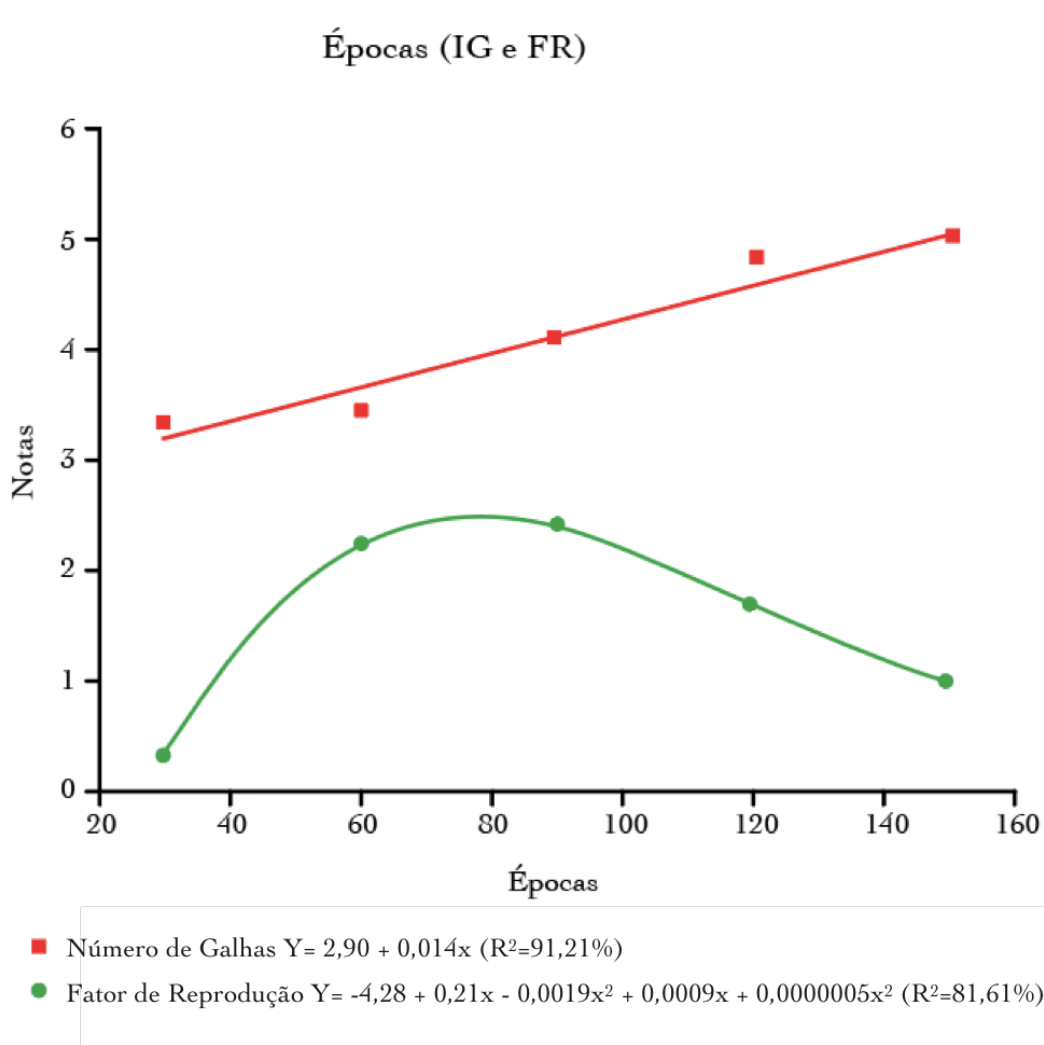
350
351
352
353

Figura 2. Fator de reprodução em função do número inicial de ovos nos recipientes R1(tubetes de 280cm³) em cada época de avaliação no parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em *Psidium* spp.



354
355
356
357

Figura 3. Fator de Reprodução em função do número inicial de ovos no recipiente R2 (sacos de 864cm³) em cada época de avaliação no parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em *Psidium* spp.



358

359 **Figura 4.** Notas de Número de Galhas e Fator de Reprodução em função da época de
360 avaliação no parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em *Psidium* spp.

CAPÍTULO III

GENÔMICA COMPARATIVA MITOCONDRIAL E FILOGENIA DE ESPÉCIES DE FITONEMATOIDES

Artigo a ser enviado para a Revista GMR

(Genetics and Molecular Research)

Qualis A2 – Agrárias

Genômica Comparativa Mitocondrial e Filogenia de Espécies de Fitonematoides

Jackeline Gadé de Araujo Rossiter^{1,2}, Rômulo Maciel de Moraes Filho^{1,2}, Horace Jose Jimenez^{1,2}, Allan Deyws Francisco da Silva^{1,2}, Luiza Suely Semen Martins^{1,3}

RESUMO

Nematoides parasitas de plantas representam um dos maiores estresses bióticos para plantas cultivadas e devido a sua distribuição cosmopolita, podem ser responsáveis por grandes prejuízos econômicos na agricultura e pecuária em praticamente todas as regiões do mundo. Os nematoides têm atraído ampla atenção científica, por serem também organismos modelos e indicadores de biodiversidade. Genomas mitocondriais completos de 12 espécies de fitonematóides foram recuperados de bancos de dados e utilizados para uma análise comparativa do grupo. A análise comparativa do genoma mitocondrial das doze espécies, revelou que as diferenças encontradas entre as espécies de fitonematoides é basicamente devida as regiões não codificantes e rearranjos posicionais dos genes. A análise de *Neighbour net* com base nas sequências de DNA ribossomal 28S nuclear e do gene mitocondrial *cox1* revelaram consistência com a proposta de classificação em nível de família, observada na literatura com exceção da família Pratylenchidae, onde ficou evidenciado o parafiletismo do grupo. Com base nos resultados das análises filogenéticas, recomenda-se a inclusão da espécie a divisão da família Pratylenchidae ou a remoção das espécies do gênero *Radopholus* e inclusão destas na família Hoplolaimidae. Observa-se claramente o parafiletismo dentro do gênero *Heterodera*, para qual os marcadores utilizados podem não ter resolução suficiente para basear a classificação deste grupo.

Palavras-chave: *Meloidogyne*, mtDNA, Aphelenchoididae, Pratylenchidae, *Heterodera*.

¹Programa de Pós-Graduação em Agronomia Melhoramento Genético de Plantas, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil; ²Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil; ³Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil. *Autor para correspondência e-mail: romulommfilho@yahoo.com.br.

ABSTRACT

Plant parasitic nematodes represent one of the greatest biotic stresses for cultivated plants and because of their cosmopolitan distribution, they may be responsible for major economic losses in agriculture and livestock in virtually all regions of the world. Nematodes have attracted extensive scientific attention, as they are also model organisms and indicators of biodiversity. Completed mitochondrial genomes of 12 phytonematous species were retrieved from databases and used for a comparative analysis of the group. The comparative analysis of the mitochondrial genome of the twelve species revealed that the differences found among phytonematous species are basically due to the non-coding regions and positional rearrangements of the genes. Neighbor net analysis based on the 28S nuclear ribosomal DNA sequences and the mitochondrial *cox1* gene revealed consistency with the family-level classification proposal, which was observed in the literature with the exception of the Pratylenchidae family, which was evidenced the group's paraplegia. Based on the results of the phylogenetic analyzes, the inclusion of the species in the family Pratylenchidae or removal of species of the genus *Radopholus* and inclusion of these species in the family Hoplolaimidae is recommended. It is clearly observed the paraphyletic inside the genus *Heterodera*, for which the markers used may not have sufficient resolution to base the classification of this group.

Key words: Meloidogyne, mtDNA, Aphelenchoididae, Pratylenchidae, Heterodera

INTRODUÇÃO

Estima-se que existem 4100 espécies de fitonematóides ou nematóides parasitas de plantas (NPPs) (Decraemer and Hunt, 2006), a maioria infecta angiospermas (monocotiledôneas e dicotiledôneas), mas alguns podem infectar gimnospermas (Poinar, 2011). A maioria destes patógenos vivem no solo, juntamente com vários outros organismos fitopatogênicos, como fungos e bactérias, interagindo e resultando um efeito sinérgico, onde os danos ocasionados serão significativamente maiores que a soma dos danos causados por cada patógeno individualmente (Ornat and Sorribas, 2008).

Devido ao estilo de vida, o parasitismo de muitos nematoides causa numerosas doenças humanas e grandes perdas financeiras à agricultura e pecuária, fazendo com que venham atraindo ampla atenção científica, sendo organismos modelos de indicadores de biodiversidade (Meldal et al., 2007; van Megen et al., 2009). A distribuição geográfica é cosmopolita, ou seja, abrange todos os ecossistemas (Kamitani, 2010).

Uma pesquisa indicou que o nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.), nematoide de cisto (*Heterodera* e *Globodera*), nematoide das raízes (*Pratylenchus* spp.), nematoide carvenícola (*Radopholus similis*), nematoide do caule e bulbo (*Ditylenchus dipsaci*), nematoide do pinheiro (*Bursaphelenchus xylophilus*), nematoide reniforme (*Rotylenchulus reniformis*), nematoide do punhal (*Xiphinema index*), falso nematoide das galhas (*Nacobbus aberrans*) e nematoide da ponta branca do arroz (*Aphelenchoides besseyi*), são considerados os mais importantes fitonematóides em todo o mundo devido a sua capacidade de infectar e causar prejuízos econômicos em praticamente todas as espécies de plantas cultivadas (Jones et al., 2013; Rosa et al., 2013).

Os nematoides das galhas (gênero *Meloidogyne*, infraordem *Tylenchomorpha*, subordem *Tylenchina*, ordem *Rhabditida*, classe *Chromadorea*) (De Ley and Blaxter, 2004) são os mais importantes parasitas de plantas, compreendendo mais de 100 espécies, além de várias raças descritas (Karssen, 2002; Jones et al., 2013). Essa denominação refere-se a galhas típicas nas raízes de plantas hospedeiras que reduzem a absorção de água e nutrientes, resultando em menor produtividade das culturas (Abad et al., 2003). O gênero *Meloidogyne* inclui os nematóides mais difundidos e prejudiciais em todo o mundo: *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. chitwoodi* e *M. enterolobii* (Sasser et al., 1983). A identificação precisa das espécies de *Meloidogyne* é fundamental para o manejo efetivo da cultura (Carneiro et al., 2014). O diagnóstico das espécies era realizado com base nos caracteres morfológicos, gama de hospedeiros e na eletroforese de isoenzimas esterásicas, combinados com métodos baseados em DNA, tornando-se menos eficaz com a crescente descrição de novas espécies (Hunt e Handoo, 2009; Carneiro et al., 2014). Com isso, sequências mitocondriais foram propostas como uma alternativa para a identificação precisa de espécies de *Meloidogyne*, para estudar a variabilidade intraespecífica e para seguir linhagens maternas (Fargette et al., 2010).

A organização e o tamanho do genoma mitocondrial são bastante variáveis nas diferentes linhagens filogenéticas dos eucariotos. O seu tamanho pode variar entre cerca de 16 Kb em humanos a 500 Kb em algumas espécies de plantas, a maioria dos genomas mitocondriais (mtDNA) contém entre 12 e 20 genes codificadores de proteínas, e grande parte desses genes codificam componentes chaves da respiração aeróbica e tradução, como as citocromos oxidases e proteínas ribossômicas (Andersson et al., 2003; Bullerwell e Gray, 2004). Os mtDNA completos estão sendo utilizados em estudos filogenéticos fornecendo resolução superior aos marcadores moleculares tradicionalmente utilizados,

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

fornecendo estimativas precisas de data de divergência, tornando-se assim o marcador de escolha para a resolução de controvérsias taxonômicas (Park et al., 2011; Duchêne et al., 2011; Hu and Gasser, 2006; Gissi et al., 2008; Cameron, 2014; Nelson et al., 2012; Sun et al., 2014).

O conteúdo genético mitocondrial é variável apenas em alguns grupos de metazoários, como alguns nematóides que não possuem o gene at8 (Hu and Gasser, 2006), um bivalve que também não possui atp8 e possui um gene extra de tRNA (Hoffman et al., 1992) e o cnidário que perderam quase todos os tRNAs genes (Wolstenholme, 1992). Os genomas mitocondriais dos animais compartilham várias características, incluindo conteúdo e ordem relativamente constante do gene, herança predominantemente materna, taxa de recombinação reduzida e alta taxa mutacional sendo essa molécula central em estudos de análises genéticas e genômicas, e no desenvolvimento de marcadores genéticos para a sistemática molecular de doenças, apoptose e envelhecimento (Hu and Gasser, 2006).

A mitocôndria é uma organela eucariótica que possivelmente evoluiu há cerca de um milhão de anos a partir de uma α -proteobactéria (Andersson et al., 2003; Sagan, 1967), cuja principal função no organismo é a produção de energia (referência). As mitocôndrias contêm seus próprios genomas com um código genético modificado, que geralmente são muito compactos (sem introns, pouco DNA intergênico e a maioria dos genes mostra sinais de seleção para tamanho pequeno) e altamente conservados em termos de conteúdo genético e organização (Gissi et al., 2008; Boore, 1999; Rand, 2009; Taanman, 1999). Os mtDNAs animais são geralmente moléculas pequenas e circulares contendo 12–13 genes codificadores de proteínas para enzimas da via de fosforilação oxidativa, 22 genes codificadores de RNA de transferência (tRNAs) e 2 genes codificadores de RNA ribossômico (Boore, 1999). O marcador genético mais utilizado para este tipo de estudos em nematóides é o 18S rRNA (ou nSSU) (Černotíková et al., 2011; Park et al., 2011; van Megen et al., 2009).

Uma comparação de filo revelou que os mtDNAs nematóides são caracterizados por uma taxa muito rápida de rearranjo gênico mitocondrial e são menores em tamanho do que os de outros grupos metazoários, variando em tamanho de 13 kb a 15 kb com algumas exceções como *Romanormis culicivorax* (26 kb), *Pratylenchus vulnus* (21 kb), *Hexameris agrotis* (24 kb) (Boore, 1999; Hu and Gasser, 2006; Sultana et al., 2013; Liu et al., 2013; Azevedo and Hyman, 1993). Os mtDNAs dos nematóides são

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

caracterizados por rearranjos gênicos relativamente frequentes (Park et al., 2011; Liu et al., 2013; Sun et al., 2014), códons de iniciação únicos (Wolstenholme, 1992; Okimoto et al., 1991), taxa de substituição rápida de nucleotídeos, tRNAs não convencionais (Gissi et al., 2008) e às vezes até organização única (Armstrong et al., 2000; Gibson et al., 2011), tornando-o um modelo promissor para o estudo dos mecanismos de rearranjos gênicos mitocondriais e da evolução da arquitetura genômica (Hu and Gasser, 2006).

Ferramentas de diagnóstico rápidas e precisas estão disponíveis para a maioria dos organismos economicamente importantes *Meloidogyne* spp. (Blok et al., 2002; Randig et al., 2002; Zijlstra and Van Hoof, 2006; Tigano et al., 2010; Correa et al., 2013; 2014; Humphreys-Pereira e Elling, 2014; Pagan et al., 2015). No entanto, apenas alguns marcadores de DNA foram testados para estudos populacionais dentro de uma espécie de *Meloidogyne*. O DNA mitocondrial (mt) tem sido usado para estudar a estrutura genética dos fitonematóides (Plantard et al., 2008; Gutiérrez-Gutiérrez et al., 2011). Kiewnick et al. (2014) desenvolveram dois marcadores nucleares (18S e 28S) e dois mtDNA (cox1 e cox2) para discriminar entre *Meloidogyne* spp. Esses marcadores também são úteis para estudos de genética de populações. A plasticidade do genoma mitocondrial tem sido estudada em metazoários através da análise do conteúdo gênico, tamanho do genoma, assimetria da cadeia genética e arquitetura do genoma (Gissi et al., 2008).

Análises *in silico* são essenciais para a identificação, caracterização estrutural e funcional de sequências genômicas, além de possibilitar a predição de estruturas e funções de proteínas (Borém and Fristche-Neto, 2013). Este tipo de experimentação representa uma alternativa de baixo custo para estudos sobre funções biológicas com modelos computacionais bastante precisos, quando comparados com as condições naturais, e mais especificamente, podem auxiliar na busca de genes ligados ao parasitismo e à resistência nas espécies hospedeiras (Darabi and Seddigh, 2015; Feng et al., 2015; Han et al., 2015; Vatansever et al., 2016; Moraes Filho and Martins, 2016).

Os objetivos deste trabalho foram: (1) Avaliar a organização e conservação dos genomas mitocondriais de espécies de fitonematóides depositadas em bancos de dados públicos e (2) Realizar análises filogenéticas entre espécies de fitonematóides com base em sequências de genes mitocondriais (Cox1) e nucleares (rRNA 28s).

MATERIAL E MÉTODOS

Mineração de dados

As sequências de genoma mitocondrial das espécies foram recuperadas do banco de dados da NCBI (National Center for Biotechnology Information), em formato FASTA, contendo 15 espécies de fitonematóides.

Alinhamento e Reconstrução filogenética

Representações lineares dos genomas mitocondriais de fitonematóides foram observadas a partir do servidor OGDRAW (Lohse et al., 2013), com base nas anotações disponíveis no NCBI para cada um dos genomas.

Sequências dos genes *Cox1* e *rRNA28s* por terem maior representatividade nos bancos de dados fitonematóides foram selecionadas de acordo com similaridade com sequências dos dois genes da espécie *M. enterolobii*, por meio do uso da ferramenta BLAST. As sequências foram recuperadas em formato fasta e alinhadas no software MEGA7, versão 7.0 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (Kumar et al., 2016), por meio do algoritmo ClustalW para a análise filogenética pelo método de Máxima Verossimilhança o modelo de substituição foi o do tipo GTR+G obtido pelo JmodelTEST (Posada, 2008). O suporte estatístico foi obtido por meio de *bootstrap*, usando 1000 replicatas. Os valores *bootstrap* de 90-100 foram considerados fortemente suportados, 80-89 moderadamente suportados e 50-79 fracamente suportados. Para a filogenia de espécies de fitonematóide, com base na sequência do gene mitocondrial, além das quinze sequências obtidas dos genomas completos, foram utilizadas mais 70 sequências, todas pertencentes a espécies de fitonematóides.

Para a análise de Neighbour Net o software *SplitsTree4* (Huson and Bryant 2006) foi utilizado com configurações padrão, o suporte estatístico foi calculado usando 1.000 replicatas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Doze espécies de fitonematóides e suas respectivas características recuperadas do banco de dados da NCBI, estão apresentadas na Tabela 1. O número de pares de bases variou de 21.656 pb (*Pratylenchus vulnus*) a 14583 pb (*B. mucronatus*). Quanto ao conteúdo de GC observou-se uma variação de 26,2% (*Pratylenchus vulnus*) a 14,1% (*Radopholus similis*). O mtDNA de *P. vulnus* é o maior entre os mtDNA de nematódeos Chromadoreanos publicados até o momento. Os genomas de DNA mitocondrial dos nematóides chromadoreanos normalmente não ultrapassam 17 kb. O tamanho

notavelmente grande de *P. vulnus* é devido a regiões não codificantes inusitadamente longas que abrigam sequências repetidas em tandem (Sun et al., 2014).

Tabela 1. Número de pares de bases (PB), conteúdo de guanina e citosina (GC), número de genes e família de diferentes espécies de nematoides. UFRPE, Recife-PE, 2019

Espécie	Ref.seq	PB	GC%	Nº Genes	Família
<i>Aphelenchoides besseyi</i>	NC_025291.1	16216	20	12	Aphelenchoididae
<i>B. mucronatus</i>	NC_021120.1	14583	14,7	12	Aphelenchoididae
<i>B. xylophilus</i>	GQ332424.1	14778	16,5	12	Aphelenchoididae
<i>Meloidogyne arenaria</i>	KP202350.1	17580	16,6	12	Meloidogynidae
<i>Meloidogyne chitwoodi</i>	NC_024096.1	18201	15,6	12	Meloidogynidae
<i>Meloidogyne graminicola</i>	KJ139963.1	19589	16,5	12	Meloidogynidae
<i>Meloidogyne incognita</i>	KJ476151.1	17662	16,6	12	Meloidogynidae
<i>Meloidogyne javanica</i>	KP202352.1	18291	16,6	12	Meloidogynidae
<i>Meloidogyne enterolobii</i>	NC_026555.1	17053	16,8	12	Meloidogynidae
<i>Meloidogyne oryzae</i>	MK507908.1	17066	16,8	12	Meloidogynidae
<i>Pratylenchus vulnus</i>	NC_020434.1	21656	26,2	12	Pratylenchidae
<i>Radopholus similis</i>	NC_013253.1	16791	14,1	12	Pratylenchidae

A variação do genoma quanto ao conteúdo GC entre as espécies de nematoides são em parte devido à presença de regiões não codificantes longas (Sun et al., 2014). As composições nucleotídicas de todas as sequências do mtDNA de Heteroderidae são voltadas para A e T, onde o T é o nucleotídeo mais favorecido e C e G os menos favorecidos (Sun et al., 2014). A riqueza de A + T em Heteroderidae está relacionada à propensão para o uso de alta frequência de códons ricos em T e / ou A em seus genes codificadores de proteína e maior conteúdo de A + T em regiões não codificadoras (Sultana et al., 2013).

Foram observados 12 genes codificadores de proteínas (PCGs) (*cox1-3*, *nad1-6*, *cytb* e *atp6*) no mtDNA dos genomas, sendo todos transcritos na mesma direção. Os genomas mitocondriais completos geralmente contêm 36 genes que compreendem 12-13 genes codificadores de proteínas (PCGs). Este conteúdo gênico é comum a todos os outros mtDNAs de nematoides até o momento sequenciados (Figura 1).

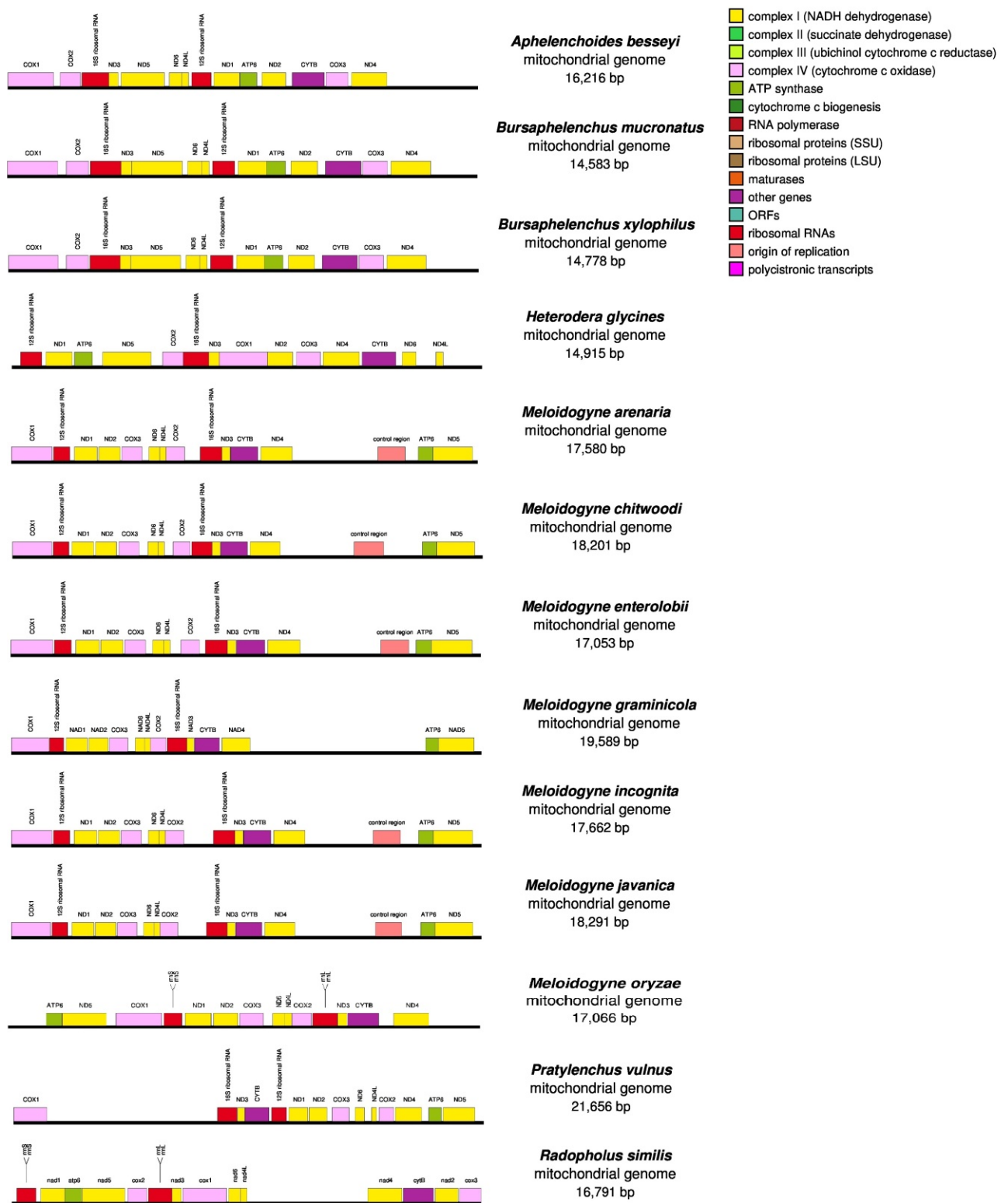


Figura 1. Representação linear do genoma mitocondrial de espécies de fitonematóides obtidas pelo servidor OGDRAW (Lohse et al., 2013).

Pela análise comparativa do genoma mitocondrial das treze espécies, observa-se que as diferenças encontradas entre as espécies de fitonematóides é basicamente devida

as regiões não codificantes e rearranjos posicionais dos genes, como o observado também por Sultana et al., (2013). O mtDNA dos genomas observados fora consistente com os trabalhos realizados com nematódeos da classe Chromadorea publicados até o momento, mas a localização dos genes de tRNA é diferente. Comparações entre os genomas mostraram que *A. besseyi* compartilha regiões sintênicas em *B. mucronatus* e *B. xylophilus*, e *M. arenaria* compartilha regiões sintênicas em *M. chitwoodi*, *M. graminicola*, *M. enterolobii*, *M. javanica* e *M. incognita*. Modificações no arranjo gênico são explicadas pelo modelo de perda de duplicação em tandem, no qual uma cópia idêntica é inserida próximo à cópia original, seguida por uma perda de um dos genes duplicados (Shi et al., 2015).

Em espécies de nematoides, o gene Cox1 geralmente surge entre os primeiros na sequência no mtDNA, pois ele usa o códon ATT que é responsável pela iniciação da sequência (Wolstenholme, 1992). O gene Cox1 foi o códon de início mais frequentemente observado em *M. arenaria*, *M. chitwoodi*, *M. enterolobii*, *M. graminicola*, *M. incognita*, *M. javanica* e *P. vulnus*. Os genes nd5 e nd4 devem aparecer entre os últimos na sequência no mtDNA, pois eles utilizam os códons TAG e TAA, que são dois códons de parada completos. Vários genes de ambos os genomas do mt apresentam um códon de terminação truncado (T) (Sultana et al., 2013). Este acontecimento é comum no filo Nematoda, por exemplo, nos nemátodes *B. xylophilus* (*atp6* e *cob*), *R. similis* (*nad6*) e *H. glycines* (*nad5*) (Sultana et al., 2013). Para toda a sequência do mtDNA das espécies de nematoides, a formação nucleotídica beneficia consideravelmente A e T, o que esse viés de nucleotídeos também é refletido no uso de códons. Os códons que codificam estes aminoácidos são compostos totalmente de T e / ou A, que podem desempenhar um papel importante no elevado teor de A + T e baixo C + G de toda a sequência do mtDNA (Sultana et al., 2013).

De acordo com a Tabela 2 podemos verificar que o gene Cox1 é o mais longo com valores variando entre 1575 pb em *A. besseyi* a 1513 pb em *M. oryzae*, em contraste o gene ND4L é o mais curto com valores variando de 246 pb em *M. graminicola* a 231 pb em *P. vulnus*, esse resultado está de acordo com o observado por Humphreys-Pereira e Elling (2014), que observaram o gene Cox1 como o mais longo e o gene NAD4L como o mais curto, em um estudo com as espécies *M. chitwoodi* e *M. incognita*.

Tabela 2. Tamanho em pares de base dos genes de doze espécies de fitonematóides.

ESPÉCIES	GENES											
	COX1	COX2	ND3	ND5	ND6	ND4L	ND1	ATP6	ND2	CYTB	COX3	ND4
AB	1575	699	328	1488	432	232	882	585	816	1102	768	1218
BM	1563	690	330	1569	435	234	876	597	828	1102	768	1230
BX	1563	690	330	1569	435	234	873	595	825	1102	768	1230
MA	1522	693	315	1474	399	237	850	552	802	1015	762	1173
MC	1521	661	315	1470	399	237	841	549	807	1032	778	1164
MG	1554	675	306	1503	390	246	885	537	807	1035	771	1170
MI	1522	693	315	1474	399	237	850	552	802	1015	762	1173
MJ	1522	693	315	1474	399	237	850	552	802	1015	762	1173
ME	1522	675	315	1480	399	235	850	552	805	1021	760	1173
MO	1513	648	312	1464	390	240	850	522	807	1035	771	1167
PV	1533	681	330	1461	429	231	873	582	822	1107	777	1212
RS	1557	678	333	1536	487	243	861	600	825	1086	774	1218

AB= *Aphelenchoides besseyi*; BM= *B. mucronatus*; BX= *B. xylophilus*; MA= *Meloidogyne arenaria*; MC= *Meloidogyne chitwoodi*; MG= *Meloidogyne graminicola*; MI= *Meloidogyne incognita*; MJ= *Meloidogyne javanica*; ME= *Meloidogyne enterolobii*; MO= *Meloidogyne oryzae*; PV= *Pratylenchus vulnus*; RS= *Radopholus similis*.

Análises de Agrupamento

Na análise de *Neighbour net* das espécies de fitonematóides com base nas sequências de DNA ribossomal 28S nuclear e do gene mitocondrial *Cox1*, claros agrupamentos condizem com a classificação de famílias, a exceção da família *Pratylenchidae*, onde ficou evidenciado o parafiletismo do grupo (Figura 2).

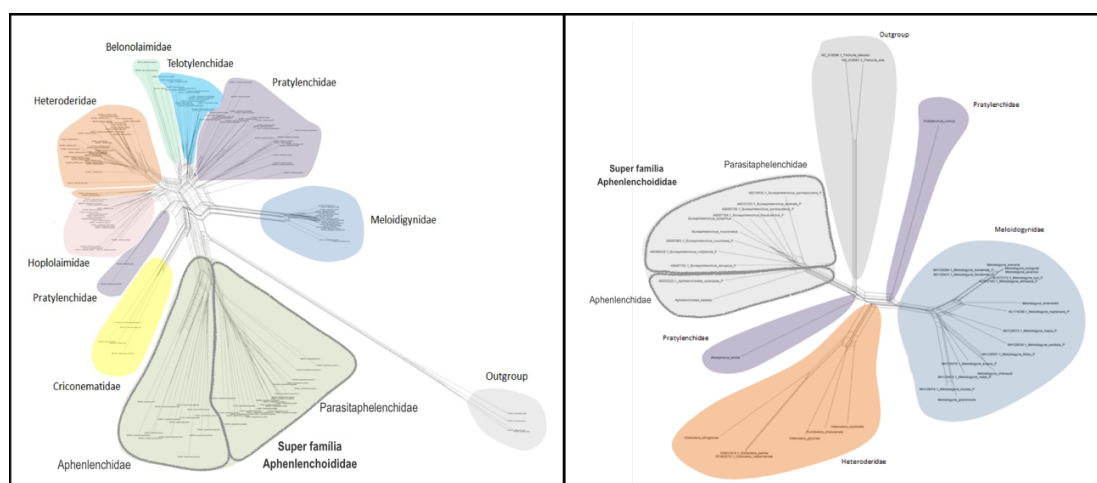


Figura 2. Análise de *Neighbour net* para famílias de fitonematóides geradas com base nas sequências de DNA Ribossomal 28S Nuclear e no gene mitocondrial *COX1*.

A reconstrução filogenética em Máxima Verossimilhança baseada no gene mitocondrial *Cox1* revelou uma árvore monofilética, com clado forte (BS=100%). O primeiro clado engloba representantes da família Meloidogynidae, incluindo as dezessete espécies do gênero *Meloidogyne*, bastante próximo à espécie *Prathylenchus vulnus* (BS=99%) pertencente à família Pratylenchidae. O quinto clado engloba nove espécies pertencentes à família Parasitaphelenchidae e duas espécies pertencentes a família Aphenlenchoididae. As espécies do grupo externo pertencentes à família Trichuridae formaram um clado separado e com suporte bootstrap de 100% (Figura 3).

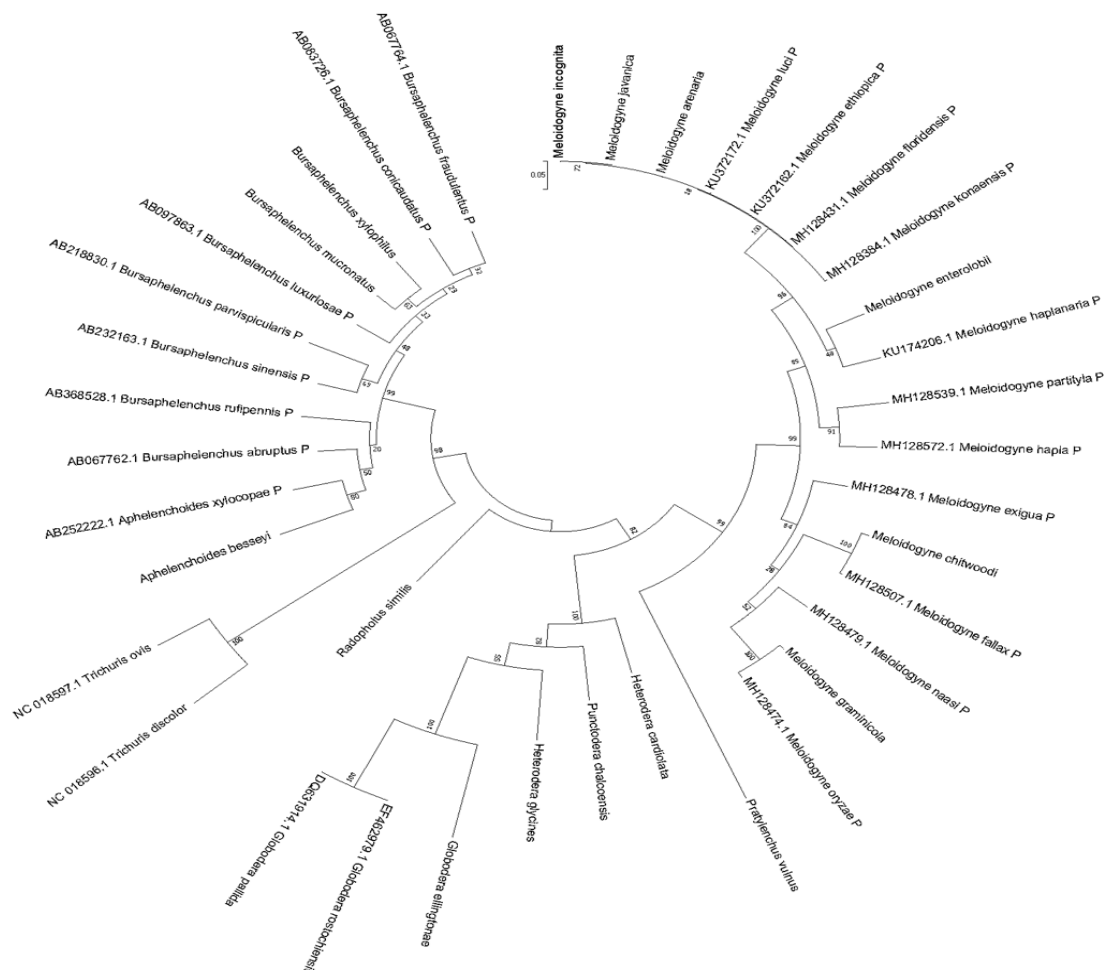


Figura 3. Reconstrução filogenética pela metodologia de Máxima Verossimilhança, baseada no gene mitocondrial COX1. A árvore filogenética foi gerada pelo *software* MEGA7, usando o método máxima probabilidade e o suporte estatístico foi calculado usando 1000 replicatas. Valores de suporte de bootstrap (%) são mostrados na interseção de cada ramo.

Para a filogenia baseada no DNA ribossomal 28S nuclear houve a formação de nove clados, onde o clado maior (BS=100%) comportou as espécies pertencentes à família Aphenlenchoididea. Os outros clados englobaram espécies pertencentes as seguintes

famílias Pratylenchidae, Meloidogynidae, Telotylenchidae, Belonolaimidae, Heteroderidae, Hoplolaimidae, Pratylenchidae e Criconematidae. Para a filogenia baseada no gene mitocondrial Cox1, houve a formação de cinco clados onde o maior englobou espécies pertencentes à família Meloidogynidae, o segundo clado englobou as espécies pertencentes a família Aphelenchoididea. Um terceiro clado observado contou com espécies da família Heteroderidae e dois clados com duas espécies pertencentes à família Pratylenchidae, mostrando que a subfamília não é monofletica. As espécies do grupo externo em ambas as análises formaram um clado separado e com suporte bootstrap de 100% (Figura 4).

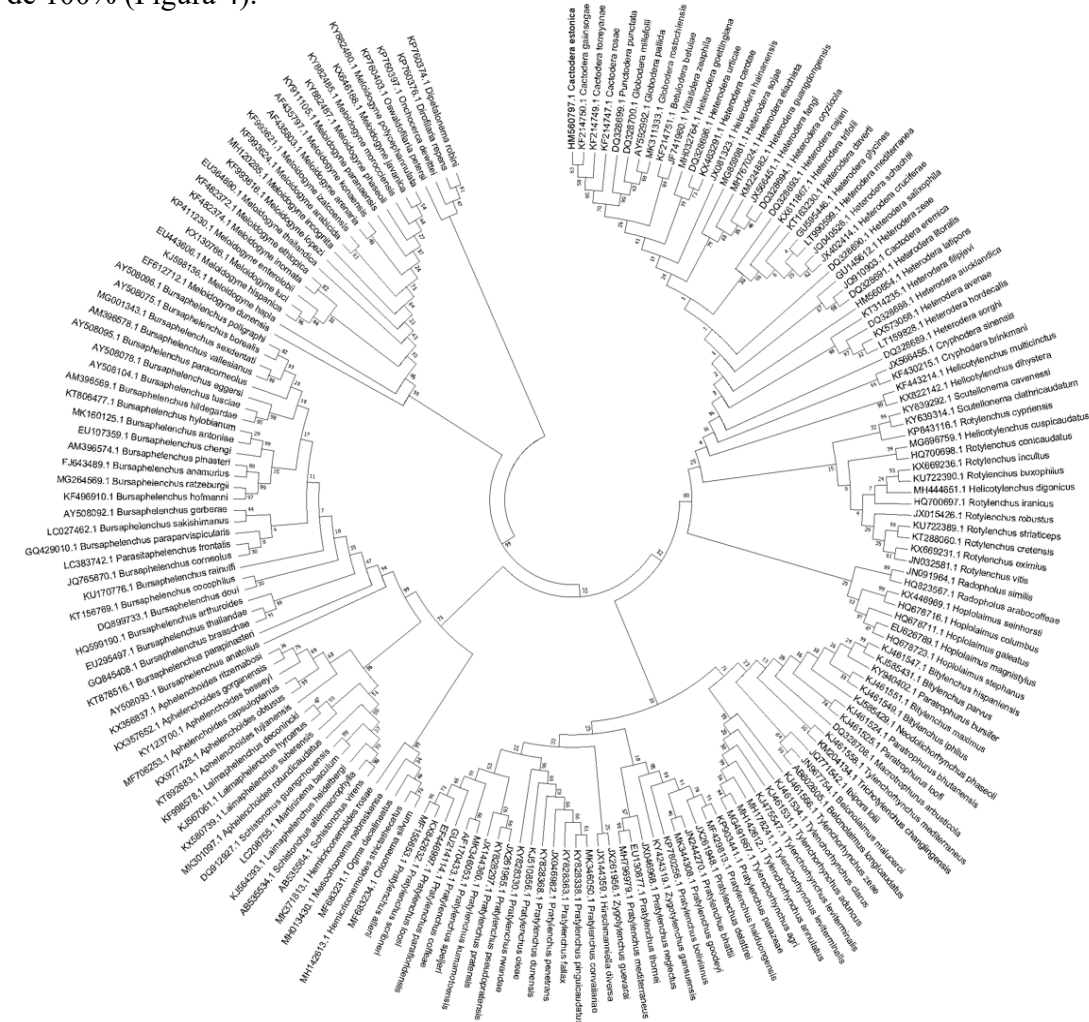


Figura 4. Reconstrução filogenética pela metodologia de Máxima Verossimilhança, baseada no gene nuclear 28S para Fitonematóides. A árvore filogenética foi gerada pelo software MEGA7. A história evolutiva foi inferida utilizando o método de Máxima probabilidade baseado no modelo geral de tempo reversível (General Time Reversible Model). A árvore com a maior probabilidade logarítmica (-47747,23) é mostrada. A análise envolveu 181 sequências de nucleotídeos, totalizando 1550 posições avaliadas. O suporte estatístico foi calculado usando 1000 replicata s. Valores de suporte de bootstrap (%) são mostrados na interseção de cada ramo.

As análises filogenéticas por meio do Cox1 e do DNA ribossomal 28S entre as espécies de *Meloidogyne* revelaram um gênero monofilético próximo de espécies da família Pratylenchidae. Esses resultados são próximos dos apresentados por Humphreys–Pereira e Elling (2014), onde se apoia a ideia de que *Pratylenchus* e *Meloidogyne* partilham de um ancestral comum (Rybarczyk-Mydłowska et al., 2014). Um estudo por meio de técnicas moleculares propusera que o gênero *Pratylenchus* pode estar intimamente relacionado ao ancestral comum dos nematoides das galhas. Apesar de *Meloidogyne* serem endoparasitas sedentários e *Pratylenchus* ser endoparasitos migratórios, eles compartilham semelhanças em termos de ampla gama de hospedeiros e estratégias reprodutivas múltiplas que incluem partenogênese meiótica, partenogênese mitótica e anfimixia (Rybarczyk-Mydłowska et al., 2014).

Foi possível observar que *P. vulnus* e *R. similis*, dois membros da família Pratylenchidae, não apresentaram proximidade, sendo semelhantes aos resultados apresentados por Rybarczyk-Mydłowska et al. (2014) e Humphreys–Pereira e Elling (2014), onde foi observado uma proximidade com espécies do gênero *Heterodera* e *Globodera*.

Nas análises filogenéticas o gênero *Bursaphelenchus* não foi revelado monofilético, mas algumas espécies revelaram proximidades quando comparado com os encontrados na literatura. Foi possível observar que as espécies *B. xylophilus* e *B. mucronatus* foram muito próximas. A biologia de *B. xylophilus* é semelhante à de seu parente mais próximo *B. mucronatus*, pois ambas as espécies compartilham recursos alimentares e vetores de insetos, e possuem características morfológicas muito semelhantes (Pereira et al., 2013). Próximo ao gênero *Bursaphelenchus* foi observado a presença de representantes do gênero *Aphelenchoides*, revelando semelhança aos resultados encontrados por Jesus et al. (2015). A maioria das espécies de *Aphelenchoides* não possuem informações confiáveis. A identificação correta e a filogenia de espécies de *Aphelenchoides* não são fáceis devido à inacessibilidade de algumas referências, literaturas pobres, descrição inadequada de várias espécies e falta de detalhes confiáveis. Além disso, este gênero possui poucos caracteres taxonômicos informativos (Kanzaki, 2006).

O gênero *Heterodera* apresentou parafilético entre as suas espécies na árvore filogenética devido à presença da espécie *Punctodera chalconensis*. O gênero *Globodera* revelou monofilético entre as suas espécies (BS=100%), onde esse resultado difere do

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

obtido por Sabo (2002), pois o autor obteve parafiletismo devido a presença das espécies do gênero *cactodera*. A proximidade dos gêneros *Globodera* e *Punctodera* suporta a ideia de um monofiletismo para a subfamília Punctoderinae, onde o gênero *Heterodera* se insere como um clado irmã (Subbotin et al., 2001).

CONCLUSÕES

Com base nos resultados das análises filogenéticas, recomenda-se a verificação da espécie a divisão da família Pratylenchidae ou a remoção das espécies do gênero *Radopholus* e inclusão destas na família Hoplolaimidae. Observa-se claramente o parafiletismo dentro do gênero *Heterodera*, para qual os marcadores utilizados podem não ter resolução suficiente para basear a classificação deste grupo.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi realizado com recursos gerados por bolsas da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Allan D. F. da Silva e Horace J. Jimenez como bolsistas de Doutorado CAPES, e Rômulo M. Moraes Filho bolsista de Pós-Doutorado CAPES/UFRPE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abad P, Favery B, Rosso MN, Castagnone-Sereno P (2003). Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. *Mol Plant Pathol.* 4: 217–224. pmid:20569382.

Andersson SGE, Karlberg O, Canbäck B, Kurland CG (2003). On the origin of mitochondria: a genomics perspective. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 358:165–179.

Armstrong MR, Blok VC, Phillips MS (2000). A multipartite mitochondrial genome in the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Genetics.* 154:181–192.

Azevedo JL, Hyman BC (1993). Molecular characterization of lengthy mitochondrial DNA duplications from the parasitic nematode *Romanomermis culicivorax*. *Genetics.* 133: 933–942. pmid:8462851.

Blok VC, Wishart J, Fargette M, Berthier K and Phillips MS (2002). Mitochondrial DNA differences distinguishing *Meloidogyne mayaguensis* from the major species of tropical root-knot nematodes. *Nematology.* 4: 773-781.

Boore JL. Animal mitochondrial genomes (1999). *Nucleic Acids Res.* 27: 1767-1780. doi: 10.1093 / nar / 27.8.1767.

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

Borém A, and Fristche-Neto R (2013). *Ômega 360º: Aplicações e estratégias para o melhoramento de plantas*. Editora Supreme. Visconde do Rio Branco. 2013. 289p.

Bullerwell CE, and Gray, MW (2004). Evolution of the mitochondrial genome: protist connections to animals, fungi and plants. *Current Opinion in Microbiology* 7: 528- 534.

Cameron SL (2014). Insect mitochondrial genomics: implications for evolution and phylogeny. *Annu Rev Entomol.* 59: 95–117. doi: 10.1146/annurev-ento-011613-162007.

Carneiro R, Correa V, Almeida MR, Gomes AC, Mohammad Deimi A, Castagnone-Sereno P, et al. (2014) *Meloidogyne luci* n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitising different crops in Brazil, Chile and Iran. *Nematology*. 16: 289–301.

Černotíková E, Horák A, Moravec F (2011). Phylogenetic relationships of some spirurine nematodes (Nematoda: Chromadorea: Rhabditida: Spirurina) parasitic in fishes inferred from SSU rRNA gene sequences. *Folia Parasitol (Praha)* 2011; 58:135–148. doi: 10.14411/fp.2011.013.

Correa VR, Dos Santos MFA, Almeida MRA, Peixoto JR, Castagnone-Sereno P, Carneiro RMDG (2013). Species-specific DNA markers for identification of two root-knot nematodes of coffee: *Meloidogyne arabicida* and *M. izalcoensis*. *Eur. J. Plant Pathol.* 137, 305–313.

Correa VR, Mattos VS, Almeida MRA, et al. (2014). Genetic diversity of the root-knot nematode *Meloidogyne ethiopica* and development of a species-specific SCAR marker for its diagnosis. *Plant Pathol.* 63, 476–483.

Darabi M, Seddigh S (2015). Bioinformatic characterization of aspartic protease (AP) enzyme in seed plants. *Plant Systematics and Evolution.* 301: 2399-2417.

De Ley P, Blaxter ML (2004). A new system for Nematoda: combining morphological characters with molecular trees and translating clades into ranks and taxa. *Nematol Monogr Persp.* 2: 633–653.

Decraemer W, Hunt DJ (2006). Structure and classification. In: Perry, R.N., Moens, M. (Eds.), *Plant Nematology*. CAB International, Wallingford, pp. 3–32.

Duchêne S, Archer FI, Vilstrup J, Caballero S, Morin PA (2011). Mitogenome phylogenetics: the impact of using single regions and partitioning schemes on topology, substitution rate and divergence time estimation. *PLoS One.* 6: e27138. doi: 10.1371/journal.pone.0027138.

Fargette M, Berthier K, Richaud M, Lollier V, Franck P, Hernandez A, et al. (2010) Crosses prior to parthenogenesis explain the current genetic diversity of tropical plant parasitic *Meloidogyne* species (Nematoda: Tylenchida). *Infect Genet Evol.* 10: 807–814. PMID:19393769.

Feng BZ, Li PQ, Fu L, Yu XM (2015). Exploring laccase genes from plant pathogen genomes: a bioinformatic approach. *Genetics and Molecular Research.* 14: 14019-4036.

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

Gibson T, Farrugia D, Barrett J, Chitwood DJ, Rowe J, Subbotin S, et al. (2011) The mitochondrial genome of the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*. *Genome*. 2011; 54:565–574. doi: 10.1139/g11-024.

Gissi C, Iannelli F, Pesole G (2008). Evolution of the mitochondrial genome of Metazoa as exemplified by comparison of congeneric species. *Heredity*. 101: 301–320. pmid:18612321

Gutiérrez-Gutiérrez C, Palomares Rius JE, Cantalapiedra-Navarrete C, Landa BB and Castillo P (2011). Prevalence, polyphasic identification, and molecular phylogeny of dagger and needle nematodes infesting vineyards in southern Spain. *European Journal of Plant Pathology* 129, 427–453 (2011).

Han Y, Zheng QS, Wei YP, Chen J, et al. (2015) In silico identification and analysis of phytoene synthase genes in plants. *Genet. Mol. Res.* 2015; 14: 9412-9422. <http://dx.doi.org/10.4238/2015>.

Hoffmann RJ, Boore JL, Brown WM (1992). A novel mitochondrial genome organization for the blue mussel, *Mytilus edulis*. *Genetics*. 1992; 131: 397–412. pmid:1386586.

Hu M, Gasser RB (2006). Mitochondrial genomes of parasitic nematodes - progress and perspectives. *Trends parasitol.* 22: 78–84. doi: 10.1016 / j.pt.2005.12.003.

Humphreys-Pereira DA, Elling A (2014). Mitochondrial genomes of *Meloidogyne chitwoodi* and *Meloidogyne incognita* (Nematoda: Tylenchina): Comparative analysis, gene order and phylogenetic relationship with other nematodes. *Mol Biochem Parasit.* 194: 20–32. pmid:24751670

Hunt D, Handoo Z (2009). *Taxonomy, identification and principal species*. In: Perry RN, Moens M, Starr JL, editors. Root-knot nematodes. CABI, Wallingford. pp. 55–97.

Huson DH, Bryant D (2006). Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution* 23: 254–267.

Jesus, DSD (2015). *Taxonomia integrativa de espécies de aphelenchoides associadas a sementes de gramíneas forrageiras e desenvolvimento de diagnóstico baseado em pcr em tempo real*. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade federal de Viçosa, Minas Gerais-MG, 90 p. 2015.

Jones JT, Haegeman A, Danchin EGJ, Gaur HS, Helder J, Jones MG, et al. (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 14, 946–961. pmid:23809086.

Kamitani FL (2010). *Caracterização molecular de isolados de nematoides entomopatogênicos, Heterorhabditis spp. e seus simbiotes, Photorhabdus spp., provenientes de Monte Negro, RO*. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 110 p. 2010.

Kanzaki N (2006). Descrição de *Aphelenchoides xylocopae* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae), a primeira associação observada entre nematóides e carpinteiros. *Nematologia*. 8: 555-562.

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

Karssen G (2002). *The plant parasitic nematode genus Meloidogyne Goldi*, 1892 (Tylenchida) in Europe. Leiden, Netherlands: Brill. 2002.

Kiewnick S, Holterman M, Van Den Elsen S, Van Megen H, Frey J, Helder J (2014). Comparison of two short DNA barcoding loci (COI and COII) and two longer ribosomal DNA genes (SSU & LSU rRNA) for specimen identification among quarantine rootknot nematodes (*Meloidogyne* spp.) and their close relatives. *Eur. J. Plant Pathol.* 140, 97–110.

Kumar S, Stecher GE, Tamura K (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets, *Molecular Biology and Evolution* 33:1870–1874.

Liu HG, Shao R, Li JY, Zhou DH, Li H, Zhu XQ (2013). The complete mitochondrial genomes of three parasitic nematodes of birds: a unique gene order and insights into nematode phylogeny. *BMC Genomics.* 14: 414. pmid:23800363.

Lohse M, Drechsel O, Kahlau S and Bock R (2013). OrganellarGenomeDRAW - a suite of tools for generating physical maps of plastid and mitochondrial genomes and visualizing expression data sets. *Nucleic Acids Research* 41: W575-W581. DOI:10.1093/nar/gkt289.

Meldal BHM, Debenham NJ, De Ley P, De Ley IT, Vanfleteren JR, Vierstraete AR, et al. (2007). An improved molecular phylogeny of the Nematoda with special emphasis on marine taxa. *Mol Phylogenet Evol.* 42:622–636. doi: 10.1016/j.ympev.2006.08.025.

Moraes Filho R and Martins LSS (2016). In silico comparative analysis of tylenchid nematodes pectate lyases. *Genetics and Molecular Research-gmr.*15038402.

NCBI (2018) *National Center for Biotechnology Information*. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein>>. Acesso em: 3 nov 2018.

Nelson LA, Lambkin CL, Batterham P, Wallman JF, Dowton M, Whiting MF, et al. (2012). Beyond barcoding: a mitochondrial genomics approach to molecular phylogenetics and diagnostics of blowflies (Diptera: Calliphoridae) *Gene.* 511: 131–142. doi: 10.1016/j.gene.2012.09.103.

Okimoto R, Chamberline HM, Macfarlane JL, Wolstenholme DR (1991). Repeat sequences sets in mitochondrial DNA molecules of root knot nematodes (*Meloidogyne*) nucleotide sequences, genome locations and potencial for host race identification *Nucleic Acid Res.* 19: 1619–1626. pmid:2027769

Ornat C, Sorribas FJ (2008). Integrated management of root-knot nematodes in: mediterranean horticultural crops. In: CIANCIO, A.; MUKERJI, K.G. Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes. Dordrecht: *Springer*, p. 259-312. 2008.

Pagan C, Coyne D, Carneiro RMDG, et al. (2015). Mitochondrial haplotype-based identification of ethanol-preserved root-knot nematodes from Africa. *Phytopathology* <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-08-14-0225-R> (in press).

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

Park JK, Sultana T, Lee SH, Kang S, Kim HK, Min GS, et al. (2011). Monophyly of clade III nematodes is not supported by phylogenetic analysis of complete mitochondrial genome sequences. *BMC Genomics*. 12:1–16. doi: 10.1186/1471-2164-12-1.

Pereira F, Moreira C, Fonseca L, Van Asch B, Mota M, Abrantes I, et al. (2013). Novos insights sobre a filogenia e dispersão em todo o mundo de duas espécies de nematóides intimamente relacionados, *Bursaphelenchus xylophilus* e *Bursaphelenchus mucronatus*. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056288>

Plantard O, Picard D, Valette S, Scurrah M, Grenier E, Mugniéry D (2008). Origin and genetic diversity of Western European populations of the potato cyst nematode (*Globodera pallida*) inferred from mitochondrial sequences and microsatellite loci. *Mol. Ecol.* 17, 2208–2218.

Poinar GO (2011). *The Evolutionary History of Nematodes: As Revealed in Stone, Amber and Mummies*. Brill, Leiden, The Netherlands.

Posada D, Crandall KA (1998). ModelTest. Testing the modal of DNA substitution. *Bioinformatics*. 14: 817–818. pmid:9918953

Rand DM (2009). “Why genomes in pieces?” revisited: sucking lice do their own thing in mtDNA circle game. *Genome Res Cold Spring Harbor Lab Press*. 19:700–702.

RandiG O, Bongiovanni M, Carneiro RMDG, Castagnone-Sereno P (2002). Genetic diversity of root-knot nematodes from Brazil and development of SCAR markers specific for the coffee-damaging species. *Genome* 45, 862–870.

Rosa, JMO, Westerich JN, Wilcken SR (2013). Nematoides das Galhas em Áreas de Cultivo de Olerícolas no Estado de São Paulo. *Nematologia Brasileira*, v.37, n.2, p.15-19.

Rybarczyk-Mydłowska K, Van Megen H, Van Den Elsen S, Mooyman P, Karssen G, Bakker J, et al. (2014). Both SSU rDNA and RNA polymerase II data recognise that root-knot nematodes arose from migratory Pratylenchidae, but probably not from one of the economically high-impact lesion nematodes. *Nematology*. 16:125–36.

Sabo A (2002). *Molecular systematics of plant-parasitic nematodes*. PhD thesis, Purdue University.

Sagan L (1967). On the origin of mitosing cells. *J Theor Biol*. 14:225-IN6. doi: 10.1016/0022-5193(67)90079-3.

Sasser JN, Eisenback JD, Carter CC, Triantaphyllou AC (1983). The international Meloidogyne project—its goals and accomplishments. *Ann Rev Phytopathol*. 21: 271–288.

Shi W, Gong L, Wang SY, Miao XG, Kong XY (2015). Tandem duplication and random loss for mitogenome rearrangement in *Symphurus* (Teleost: Pleuronectiformes) *BMC Genomics*. 16:355. doi: 10.1186/s12864-015-1581-6.

Subbotin SA, Vierstraete A, De Ley P, Rowe J, Waeyenberge L, Moens M, Vanfleteren JR (2001). Phylogenetic relationships within the cyst-forming nematodes (Nematoda, Heteroderidae) based on analysis of sequences from the ITS regions of ribosomal DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 21:1–16.

Sultana T, Kim J, Lee SH, Han H, Kim S, Min GS, et al. (2013). Comparative analysis of complete mitochondrial genome sequences confirms independent origins of plant-parasitic nematodes. *BMC Evol Biol*. 13: 1471–2148.

Sun L, Zhuo K, Lin B, Wang H, Liao J (2014). The complete mitochondrial genome of *Meloidogyne graminicola* (Tylenchina): a unique gene arrangement and its phylogenetics implications. *Plos one*. 9: e98558. pmid:24892428

Taanman JW (1999). The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg*. 1410:103–123. doi: 10.1016/S0005-2728(98)00161-3.

Tigano, M. et al. (2010). Genetic diversity of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* and development of a SCAR marker for this guava-damaging species. *Plant Pathology*, v. 59, n. 6, p. 1054-1061.

Van Megen H, Van Den Elsen S, Holterman M, Karssen G, Mooyman P, Bongers T, et al. (2009). A phylogenetic tree of nematodes based on about 1200 full-length small subunit ribosomal DNA sequences. *Nematology*. 11:927–950. doi: 10.1163/156854109X456862.

Vatansever R, Filiz E, Ozyigit II (2016). In silico identification and comparative analysis of molybdenum (Mo) transporter genes in plants. *Braz. J. of Bot*. 39: 87-99. doi: 10.1007/s40415-015-0217-z

Wolstenholme DR (1992). Animal mitochondrial DNA: structure and evolution. *Int Rev Cytol*. 141:173–216.

Zijlstra C, Van Hoof RA (2006). A multiplex real-time polymerase chain reaction (TaqMan) assay for the simultaneous detection of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. *Phytopathology* 96, 1255–1262.

CAPÍTULO IV

RESPOSTA DE GENÓTIPOS DE *Psidium guineense* E *Eugenia uniflora* AO PARASITISMO DE *Meloidogyne enterolobii*

Artigo a ser enviado para a revista **Ciência Agrícola**
(QUALIS A1 – Ciências Agrárias) em formato de **nota científica**.

Resposta de genótipos de *Psidium guineense* e *Eugenia uniflora* ao parasitismo de *Meloidogyne enterolobii*

Response of *Psidium guineense* and *Eugenia uniflora* genotypes to *Meloidogyne enterolobii* parasitism

Jackeline Gadé de Araujo Rossiter^{1,2}, Alane Silva Guimarães², Edilton de Albuquerque Cavalcanti Junior^{1,2}, e Luiza Suely Semen Martins^{1,3} Rômulo Maciel de Moraes Filho*^{1,2}

¹Pós-Graduação da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, UFRPE, Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos – CEP: 52171-900. Recife, Pernambuco, Brasil.

²Departamento de Agronomia, UFRPE, Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos – CEP: 52171-900. Recife, Pernambuco, Brasil.

³Departamento de Biologia, UFRPE, Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos – CEP: 52171-900. Recife, Pernambuco, Brasil.

*Autor para correspondência: romulommfilho@yahoo.com.br

- NOTA -

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a resposta de genótipos das espécies *Psidium guineense* e *Eugenia uniflora* ao parasitismo do nematóide *Meloidogyne enterolobii*. O experimento consistiu na avaliação de 10 genótipos da espécie *Eugenia uniflora*, 4 genótipos de *Psidium guineense* e uma variedade comercial de goiabeira como testemunha, totalizando 15 genótipos. Para a avaliação de resistência foi utilizada a estimativa do índice de galhas, a avaliação do fator de reprodução e a redução do fator de reprodução. Ao final da avaliação um genótipo de *P. guineense* e todos os 10 genótipos *E. uniflora* demonstraram resistência ao patógeno. O que abre a possibilidade para o seu uso como porta enxerto para variedades comerciais ou cultivo em áreas infestadas para a redução da população do nematóide no solo.

Palavras chave: Fitonematóides; Nematóides das Galhas; Myrtaceae; Porta enxertos.

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the response of genotypes of the species *Psidium guineense* and *Eugenia uniflora* to the parasitism of the nematode *Meloidogyne enterolobii*. The experiment consisted in the evaluation of 10 genotypes of the species *E. uniflora*, 4 genotypes of *P. guineense* and a commercial variety of guava as a control, totaling 15 genotypes. For the evaluation of resistance was used the estimation of gall index, the evaluation of the reproduction factor and the reduction of the reproduction factor. At the end of the evaluation a genotype of *P. guineense* and all 10 *E. uniflora* genotypes demonstrated resistance to the pathogen. This opens the possibility for its use as rootstock for commercial varieties or cultivation in infested areas for the reduction of the nematode population in the soil.

Keywords: Phytonematodes; Rootknot nematodes; Myrtaceae; Rootstocks.

A goiabeira (*Psidium guajava* L.), o araçazeiro (*Psidium guineense* Swartz) e a pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) são espécies de árvores frutíferas tropicais do Brasil que compõe uma das maiores famílias da flora nacional, a família Myrtaceae. A goiaba é uma das frutas tropicais mais consumidas no Brasil e no mundo, sendo apreciada tanto fresca como processada industrialmente, em forma de doces, compotas, geleias e sucos. Sua notoriedade não se deve apenas a seu aroma e sabor, a fruta também apresenta importância nutricional, sendo rica em açúcares, vitamina C e sais minerais (Franzon et al., 2009; Gomes Filho et al., 2016; Treichel, 2016).

Um dos principais limitantes no cultivo da goiabeira é o nematóide *Meloidogyne enterolobii* Yang e Eisenback. Esse nematóide infecta todos os tipos de raízes, desde as radículas superficiais até raízes mais lignificadas, com vários sintomas secundários, culminando com o desfolhamento generalizado e morte da planta (Gomes, 2007; Almeida, 2008).

A inexistência de cultivares resistentes a este parasita, torna de extrema importância a conservação de germoplasma nativo que poderá servir de fonte de material genético para futuros programas de melhoramento desta espécie. Alguns genótipos da espécie *P. guinensis* já foram identificados como resistentes ao *M. enterolobii* e podem ser de grande importância pela sua possibilidade de uso como porta enxerto para goiabeiras comerciais (Gonzaga Neto, 2007; Cavalcanti Junior, 2017).

A presente pesquisa teve como objetivo avaliação de genótipos de *P. guinensis* e *E. uniflora* ao parasitismo de *M. enterolobii*, e a possível indicação de genótipos resistentes para uso como porta enxerto de variedades comerciais de goiabeira e pitangueira.

O experimento teve início com as coletas de frutos de diferentes genótipos de *P. guinensis* e *E. uniflora* nos municípios de Cabo de Santo Agostinho, Paudalho e Recife, que fazem parte da região da Zona da Mata. As coletas foram realizadas entre abril e maio de 2015. Para uso como controle de suscetibilidade foi utilizada uma variedade comercial Paluma. A semeadura foi realizada em substrato comercial a base de casca de *Pinus* em bandeja de germinação de polipropileno capacidade 128 células. Após a última avaliação de germinação aos 90 dias, foram selecionadas as sete repetições mais vigorosas de cada genótipo, as quais foram transplantadas para tubetes com capacidade de 280cm³, contendo o mesmo substrato comercial a base de casca de *Pinus*.

O inóculo do *M. enterolobii* foi cedido pela Embrapa Semi-árido – CPATSA-Petrolina-PE, sendo mantido em vasos de capacidade de 3L contendo plantas de tomateiro Santa Clara (*Solanum lycopersicon* Mill), espécie reconhecida como ideal para multiplicação do nematoide em estudo. Após a extração e aferição da quantidade de ovos do *M. enterolobii* por mL da suspensão, a mesma foi depositada em quatro pequenos furos de 5 cm no solo, distanciado do colo da planta, com auxílio de uma pipeta de graduação automática (Macroset), na concentração de 6.000 ovos/planta. Genótipos de goiabeira comercial, comprovadamente suscetível, foi utilizado como controle de susceptibilidade.

Passados 120 dias foi realizado o teste de patogenicidade, seguindo o modelo estatístico DIC – delineamento inteiramente casualizado, com 15 genótipos e 7 repetições de cada, o experimento foi conduzido na casa de vegetação da Horticultura do Departamento de Agronomia da UFRPE, a qual possui sistema de irrigação tipo nebulização controlada, ideal para estudos de patogenicidade. Os tratamentos culturais aconteceram manualmente durante todo o período experimental.

O teste consistiu em retirada das raízes dos acessos do substrato cuidadosamente, em seguida foram lavadas para realização da pesagem das raízes, contagem e estimativa do índice de galhas (IG) utilizando-se escala de notas do *International Meloidogyne Project* (IMP), sugerida por Taylor e Sasser (1978). As reações dos hospedeiros foram enquadradas nos parâmetros estabelecidos por Hartman e Sasser (1985), de acordo com a escala: 0= ausência de galhas ou massa de ovos, 1= 1-2 galhas ou massa de ovos, 2= 3-10 galhas ou massa de ovos, 3= 11-30 galhas ou massa de ovos, 4= 31-100 galhas ou massa de ovos e 5= mais de 100 galhas ou massa de ovos. Plantas que apresentaram valores menores ou igual a 2 foram consideradas resistentes. A extração de ovos realizou-se cortando as raízes em pequenos segmentos de 1-2 cm, seguindo-se a técnica descrita por Hussey e Barker (1973), e a contagem dos ovos foi realizada, em Lâmina de Peters com o auxílio de microscópio óptico, modelo Meiji, para obter o resultado da população final (PF). O fator de reprodução (FR), conforme Oostenbrink (1966), foi estimado pelo quociente Pf/Pi (Pf = população final e Pi = população inicial), e comparado pelo teste de agrupamento de ScottKnott a 5% de probabilidade, no qual as plantas com $FR < 1,00$ foram consideradas resistentes. Foram determinados o número de galhas/planta, número de ovos/planta e a partir destas avaliações foi calculado o fator de reprodução (FR) que é a relação entre a população final do nematóide e a população inicial (6000 ovos) de cada tratamento ($FR=Pf/6000$). O FR foi utilizado para o cálculo da redução do FR (RFR),

onde se considera o FR do tratamento (FRt) em relação ao FR do padrão suscetível (FRp). Seguindo a fórmula: $RFR = \frac{FRp - FRt}{FRp} \times 100$. Foi dado início no teste de patogenicidade em Laboratório de extração da Área de Fitopatologia e a contagem de ovos foi realizada em Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Área de Fitotecnia, ambos do Departamento de Agronomia da UFRPE.

De acordo com a estimativa do índice de galhas de Hartman e Sasser (1985), que consideram $IG < 2$, como resistentes, sete genótipos foram considerados resistentes: Pi-UFRPE-01; Pi-UFRPE-02; Pi-UFRPE-03; Pi-UFRPE-05; Pi-UFRPE-06; Pi-UFRPE-10, PAU-CM-A44, variando de 1,29 a 1,86 (Tabela 1). Considerando-se as densidades populacionais, CAB-EC-A45 apresentou valores significativamente maiores que as outras, superando também a goiabeira comercial utilizada nesse trabalho como a testemunha de suscetibilidade. Onze genótipos apresentaram fator de reprodução abaixo de 1 ($FR < 1$): Pi-UFRPE-01; Pi-UFRPE-02; Pi-UFRPE-03; Pi-UFRPE-04; Pi-UFRPE-05; Pi-UFRPE-06; Pi-UFRPE-07; Pi-UFRPE-08; Pi-UFRPE-09; Pi-UFRPE-10; PAU-CM-A44, considerando tais plantas resistentes, dentre esses o maior valor foi de 0,688 (Tabela 1).

A classificação do comportamento dos acessos quanto a Redução do Fator de Reprodução (RFR) indicou que dez acessos se mostraram altamente resistentes (96,0-99,9): Pi-UFRPE-01; Pi-UFRPE-02; Pi-UFRPE-03; Pi-UFRPE-04; Pi-UFRPE-05; Pi-UFRPE-06; Pi-UFRPE-07; Pi-UFRPE-08; Pi-UFRPE-09; Pi-UFRPE-10, e um acesso resistente (90,0-95,9): PAU-CM-A44 (Tabela 1).

Tabela 1. Reação dos genótipos de Myrtaceae à *Meloidogyne enterolobii*. UFRPE, Recife-PE, 2019

Acessos	(IG)	PESO (gr)	Nºovos(ml)	PF	FR	RFR
Pi-UFRPE-01	1,29c	5,00	48,57	910,86c	0,151c	98,49
Pi-UFRPE-02	1,57c	5,71	19,00	358,00c	0,060c	99,41
Pi-UFRPE-03	1,86b	3,86	9,00	155,57c	0,026c	99,74
Pi-UFRPE-04	2,00b	4,57	18,57	335,00c	0,056c	98,14
Pi-UFRPE-05	1,86b	4,71	10,43	182,14c	0,030c	99,70
Pi-UFRPE-06	1,57c	5,00	20,43	320,00c	0,053c	98,65
Pi-UFRPE-07	3,57a	4,43	13,57	300,57c	0,050c	99,50
Pi-UFRPE-08	2,29b	7,00	27,00	534,57c	0,089c	99,12
Pi-UFRPE-09	2,00b	2,71	16,86	246,14c	0,041c	99,59
Pi-UFRPE-10	1,29c	2,86	18,29	278,43c	0,046c	99,54
CAB-BP-A09	4,43a	20,00	401,71	22737,43b	3,789b	62,38
CAB-BP-A10	4,14a	17,86	963,29	20882,00b	3,480b	65,45
CAB-EC-A45	4,29a	25,00	1050,00	60447,14b	10,075a	-
PAU-CM-A44	1,43c	3,29	224,29	4128,14c	0,688c	93,17
GO-COM	4,57a	7,00	315,86	6251,57c	1,042c	89,66

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. IG – Índice de galhas, PF = População Final, * = Dados Transformados para Raiz de X.

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

Apenas um genótipo de araçá, PAU-CM-A44 apresentou resistência considerando-se IG, FR e RFR₂.

Diversos trabalhos demonstram a existência de espécies da família Myrtaceae resistentes à *M. enterolobii*, destacando-se *E. uniflora* (Almeida, 2008); *P. cattleyanum*, (Martins et al., 2013; Biazatti et al., 2016) e *P. guinensis* (Cavalcanti Junior, 2017; Moraes Filho et al., 2018). *P. cattleyanum*, no entanto é relatado como incompatível como porta enxerto para *P. guajava*, sendo *P. guinensis* uma alternativa mais viável para essa função, devido ao seu maior porte e similaridade genética com a goiabeira (Martins et al, 2013).

Os resultados obtidos neste trabalho indicam a resistência da espécie *E. uniflora* a *M. enterolobii*, com valores de FR próximos de zero para todas os genótipos avaliados. O genótipo de *P. guinensis* identificado como resistente, sendo indicado para testes de compatibilidade de enxertia com goiabeiras comerciais e possível uso como porta enxerto em áreas infestadas por *M. enterolobii*.

Os genótipos, considerados resistentes ao nematoide *M. enterolobii*, podem proporcionar resultados vantajosos tanto do ponto de vista econômico, com a diminuição na utilização de defensivos químicos, pois, do ponto de vista ambiental, possibilitando um manejo mais sustentável.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, Bolsa de Mestrado; CNPQ, Bolsa de PIBIC e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas da UFRPE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida, E.J. de. 2008. O nematóide de galha da goiabeira (*Meloidogyne mayaguensis* Ramah & Hirschmann, 1988): identificação, hospedeiros e ação patogênica sobre goiabeiras. p. 116, 2008 Tese (Doutorado em Agronomia) -Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias –Unesp, Jaboticabal.

Biazatti, M.A.; Souza, R.M.; Marinho, C.S.; Guilherme, D.O.; Campos, G.S.; Gomes, V.M.; Bremenkamp, E.A.C. 2016. Resistência de genótipos de araçazeiros a *Meloidogyne enterolobii*. Ciência Rural 46: 418-420.

Cavalcanti Junior, E.A. 2017. Reação de genótipos do gênero *Psidium* spp. ao fitonematóide *Meloidogyne enterolobii* e análise *in silico* de fatores de parasitismo.

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

Dissertação (Mestrado em Agronomia (Melhoramento Genético de Plantas) - Universidade Federal Rural de Pernambuco

Franzon, R.C.; Campos, L.Z.; Proença, C.E.; Sousa-Silva, J.C. 2009. Documento 266 Araças do gênero *Psidium*: Principais espécies, ocorrência, descrição e usos. Planaltina - DF: Embrapa Cerrados. p.47.

Gomes, A.R.; Faustino, J.F.; Wilcken, S.R.S.; Carneiro, R.M.D.G.; Ambrosio, M.M.Q.; Souza, N.L. 2007. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* no Estado da Paraíba. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 32 (Suplemento): 273 (Resumo).

Gomes Filho, A.; Oliveira, T.F.; Oliveira, S.L.; Silva, G.G.; Chagas, L.M. 2016. Qualidade pós-colheita de goiabas 'pedrosato' tratadas com diferentes concentrações de fécula de mandioca associadas a substâncias antifúngicas. Revista Agri-Environmental Sciences, Palmas-TO, v. 2, n. 1, p. 37-41.

Gonzaga Neto, L. 2007. Produção de Goiaba. 14ª Semana Internacional da Fruticultura, Floricultura e Agroindústria, Fortaleza: Instituto Frutal. 64p.

Hartman, K.M; Sasser, J.N. 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology. In: Barker, K.R, Carter, C.C. & Sasser, J.N. (Eds.) Advanced Treatise on *Meloidogyne*, Vol. II. Methodology. Raleigh NC. North Carolina State University. p. 69-77.

Hussey, R.S.; Barker, K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inoculated of *Meloidogyne* spp., including a new technique. PlantDiseaseReporter, Beltsville, v.57, n.4, p.1025-1028.

Martins, L.S.S.; Musser, R.S.; Souza, A.G.; Resende, L.V.; Maluf, W.R. 2013. Parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em espécies de Myrtaceae. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 35, n. 2, p. 477-484.

Moraes Filho, R.M.; Cavalcanti Junior, E.D.A.; Rossiter, J.G.; Montarroyos, A.V.V.; Martins, L.S.S. 2018. Reaction of *Psidium guineense* and *Psidium guajava* genotypes to infection of *Meloidogyne enterolobii*. Journal of Plant Science and Phytopathology, v. 2, p. 015-019.

Oostenbrink, M. 1966. Major characteristic of the relation between nematodes and plants. Wageningen: Medelingen Landbouwhogeschule, p.46.

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

Treichel, M. 2016. Anuário Brasileiro de Fruticultura 2016. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz. 88p.

ANEXOS

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
“Melhoramento Genético de Plantas”

ANEXO IV - NORMAS DE REDAÇÃO DE TESE

1. Normas Gerais

1.1. Dissertação constitui o produto final de pesquisas desenvolvidas em cursos de Mestrado e a Tese constitui o produto final de pesquisas desenvolvidas em cursos de Doutorado. Exigem investigações próprias à área de especialização e métodos específicos.

1.2. A Dissertação ou Tese é de responsabilidade do discente, da Comissão Orientadora e da Banca Examinadora.

2. Estrutura

2.1. A Dissertação ou Tese deverá ser composta de: (i) capa, (ii) páginas pré-textuais, (iii) corpo propriamente dito e, (iv) anexo (páginas pós-textuais).

2.2. A capa deverá conter a autoria, título, local e ano da aprovação. As capas encadernadas em mais de um volume deverão conter as mesmas informações acrescidas da identificação do respectivo volume. Dois (2) exemplares devem ser de capas duras de cor preta e letras amarelas.

2.3. As páginas pré-textuais serão compostas:

2.3.1. Primeira folha interna (página de rosto), contendo; (i) autoria, (ii) título; (iii) nota explicativa de que se trata de um trabalho de Dissertação ou Tese, mencionando o Programa de Pós-Graduação, a Universidade e o grau pretendido (Mestrado ou Doutorado); (iv) comitê de orientação e (v) local e ano de aprovação. Contará, no verso desta folha, a ficha catalográfica.

2.3.2. Segunda folha interna deve conter, o título, o nome do pós-graduando(a), a data de aprovação, os nomes e as assinaturas do orientador e dos participantes da Banca Examinadora, local e data.

2.3.3. Opcionalmente, poderão ser incluídas páginas adicionais contendo: (i) agradecimento (ii) oferecimento, (iii) dedicatória e (iv) biografia do autor, obrigatoriamente, deve conter (v) lista de símbolos, figuras, tabelas e sumário.

2.3.4. Folha (s) em que conste (m) o resumo em português, palavras-chave, o abstract em inglês e key words. O resumo com no máximo 800 palavras deve destacar: o local da pesquisa, delineamento estatístico, caracterização do problema, focalizar o(s) objetivo(s), síntese da metodologia, resultados obtidos e conclusões.

2.4. O corpo da Dissertação ou Tese conterá todo o trabalho impresso, avaliado e aprovado pela Banca Examinadora. O corpo poderá ser organizado na forma de capítulos.

2.5. O corpo em capítulos será composto das seções: Capítulo I: Introdução e Referencial Teórico; Capítulos (I ou mais a depender do número de artigos científicos); e Considerações Finais (opcional). As referências bibliográficas e citações seguirão as normas da Crop Breeding and Applied Biotechnology. As referências bibliográficas deverão aparecer ao final de cada capítulo.

2.6. O anexo (páginas pós-textuais) conterá material pertinente e suplementar.

2.7. Inserir cabeçalho com citação do autor e nome da dissertação ou tese, sendo a fonte tipo arial e tamanho 10, a partir do Capítulo I até a página inicial da folha anexo(s).

3. Editoração

3.1. Composição tipográfica. As dissertações ou teses deverão ser impressas em forma permanente e legível, com caracteres de alta definição e de cor preta no tipo Arial tamanho 12, com espaçamento 1,5.

3.2. Notação científica e medidas. A nomenclatura científica deverá ser diferenciada contextualmente, de acordo com as normas internacionais. As unidades métricas deverão seguir o padrão do Sistema Internacional de Unidades.

3.3. Papel. Utilizar papel A-4 (210 x 297 mm) branco, e suficientemente opaco para leitura normal.

3.4. Margens. A margem esquerda deve ser de 3 cm e as outras margens de 2 cm.

3.5. Paginação. Todas as páginas textuais e pós-textuais deverão ser numeradas em sequência contínua, isto é, desde a página do Capítulo I (texto corrido), até a última página, em algarismos arábicos. A sequência deverá incluir tudo que estiver como mapas, diagramas, páginas em branco e outros. As páginas pré-textuais deverão ser numeradas, sequencialmente, como algarismos romanos minúsculos.

3.6. Ilustrações. Fotografias e outras ilustrações deverão ser montadas de forma definitiva e incluídas no corpo da Dissertação ou Tese. É admitido o uso de cores nas figuras e ilustrações. Em nenhuma circunstância dever-se-á empregar fita adesiva ou material similar para afixação de ilustrações no corpo da Dissertação ou Tese. Folhas de tamanho superior a A4 serão aceitáveis, desde que dobradas, de forma a resultar em dimensões inferiores ao tamanho do papel adotado.

As referências bibliográficas e as citações da tese (capítulo I) seguirão o padrão da revista *Crop Breeding and Applied Biotechnology*.



References cited in the text by the last name of the author and the year (for instance, Liu 1998, Pereira and Amaral Júnior 2001, William et al. 1990) are to be alphabetically listed in the item **References**, according to the following examples:

Article in journals

Pereira MG and Amaral Júnior AT (2001) Estimation of genetic components in popcorn based on the nested design. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** 1: 3-10.

Book Hallauer AR, Carena MJ and Miranda Filho JB (2010) **Quantitative genetics in maize breeding**. Springer, New York, 664p.

Book chapter

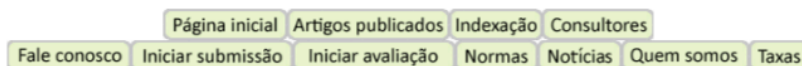
Morais PPP and Borem A (2017) GM cultivars. In Silva FL, Borem A, Sedyama T and Ludke WH (eds) **Soybean breeding**. Springer, New York, p. 174-189.

Congress Frey KJ (1992) Plant breeding perspectives for the 1990s. In Stalker HT and Murphy JP (eds) **Proceedings of the symposium on plant breeding in the 1990s**. CAB, Wallingford, p. 1-13.



ISSN Eletrônico: 1678-4596

Português English Espanhol



Normas para publicação

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via eletrônica e editados **preferencialmente em idioma Inglês**. Os encaminhados em Português poderão ser traduzidos após a 1ª rodada de avaliação para que ainda sejam revisados pelos consultores ad hoc e editor associado em rodada subsequente. Entretanto, caso **não traduzidos** nesta etapa e se **aprovados** para publicação, terão que ser **obrigatoriamente traduzidos para o Inglês** por empresas credenciadas pela Ciência Rural e obrigatoriamente terão que apresentar o certificado de tradução pelas mesmas para seguir tramitação na CR.

Empresas credenciadas:

- American Journal Experts (<http://www.journalexerts.com/>)
- Bioedit Scientific Editing (<http://www.bioedit.co.uk/>)
- BioMed Proofreading (<http://www.biomedproofreading.com>)
- Edanz (<http://www.edanzediting.com>)
- Editage (<http://www.editage.com.br/>) 10% discount for CR clients. Please inform Crural10 code.
- Enago (<http://www.enago.com.br/forjournal/>) Please inform CIRURAL for special rates.
- GlobalEdico (<http://www.globaledico.com/>)
- JournalPrep (<http://www.journalprep.com>)
- Liberty Medical Communications (<http://libertymed.com.com/>)
- Paulo Boschcov (paulo@bridgetextos.com.br, bridge.textecn@gmail.com)
- Proof-Reading-Service.com (<http://www.proof-reading-service.com/pt/>)
- Readytopub (<https://www.readytopub.com/home>)

O trabalho após tradução e o respectivo certificado devem ser enviados para: rudiweiblen@gmail.com

As despesas de tradução serão por conta dos autores. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. O máximo de páginas será **15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras.** Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que não poderão ultrapassar as margens e **nem estar com apresentação paisagem.**

Tendo em vista o formato de publicação eletrônica estaremos considerando manuscritos com páginas adicionais além dos limites acima. No entanto, os trabalhos aprovados que possuem páginas além do estipulado terão um custo adicional para a publicação (**vide taxa**).

3. O artigo científico (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão; Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Contribuição dos autores; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

4. A revisão bibliográfica (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Contribuição dos autores; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

5. A nota (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Contribuição dos autores; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

6. O preenchimento do campo "cover letter" deve apresentar, obrigatoriamente, as seguintes informações em inglês, **exceto** para artigos **submetidos em português** (lembrando que preferencialmente os artigos devem ser submetidos em inglês).

- What is the major scientific accomplishment of your study?
- The question your research answers?
- Your major experimental results and overall findings?
- The most important conclusions that can be drawn from your research?
- Any other details that will encourage the editor to send your manuscript for review?

Para maiores informações acesse o seguinte [tutorial](#).

7. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

8. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

9. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

10. Nesse [link](#) é disponibilizado o **arquivo de estilo** para uso com o software **EndNote** (o EndNote é um software de gerenciamento de referências, usado para gerenciar bibliografias ao escrever ensaios e artigos). Também é disponibilizado nesse [link](#) o **arquivo de estilo** para uso com o software **Mendeley**.

11. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

11.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

11.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

11.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Wiley, 1977. Cap 4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

11.4. Artigo completo.

O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Available from: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Accessed: Mar. 18, 2002. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Response of *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Oryzaephilus surinamensis* (L.) to different concentrations of diatomaceous earth in bulk stored wheat. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Accessed: Mar. 18, 2009. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

SENA, D. A. et al. Vigor tests to evaluate the physiological quality of corn seeds cv. 'Sertanejo'. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 47, n. 3, e20150705, 2017. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782017000300151&lng=pt&nrm=iso>. Accessed: Mar. 18, 2017. Epub 15-Dez-2016. doi: 10.1590/0103-8478cr20150705 (Artigo publicado eletronicamente).

11.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

11.6. Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

11.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20). (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

11.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

11.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow dysplasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Online. Available from: <<http://www.ivos.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Grifon1.pdf?LA=1>>. Accessed: Mar. 18, 2005 (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Online. Available from: <<http://www.zh.com.br/especial/index.htm>>. Accessed: Mar. 18, 2001(OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Online. Available from: <<http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>>. Accessed: Mar. 18, 2007.

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINÁRIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

12. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

13. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

14. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

15. Lista de verificação (Checklist [doc](#), [pdf](#)).

16. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

17. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

18. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

19. Todos os artigos encaminhados devem pagar a [taxa de tramitação](#). Artigos encaminhados (**com decisão de Reject and Resubmit**) deverão pagar a taxa de tramitação novamente. Artigos arquivados por **decorso de prazo** não terão a taxa de tramitação reembolsada.

20. Todos os artigos submetidos passarão por um processo de verificação de plágio usando o programa "Cross Check".

21. Contribuição dos autores

Para se qualificar para a autoria do manuscrito submetido, todos os autores listados deveriam ter contribuições intelectuais substanciais tanto para a pesquisa quanto para sua preparação. Por favor, use um dos exemplos abaixo ou faça o seu.

Exemplo um

RW, RA e RCNO conceberam e projetaram experimentos. WC, LM e AA realizaram os experimentos, BB realizou as análises laboratoriais. BB supervisionou e coordenou os experimentos com animais e forneceu dados clínicos. BB realizou análises estatísticas de dados experimentais. WC, MB e NO prepararam o rascunho do manuscrito. Todos os autores revisaram criticamente o manuscrito e aprovaram a versão final.

Exemplo dois

Todos os autores contribuíram igualmente para a concepção e redação do manuscrito. Todos os autores revisaram criticamente o manuscrito e aprovaram a versão final.

Exemplo três

Os autores contribuíram igualmente para o manuscrito.



Ciência Rural
Universidade Federal de Santa Maria - Centro de Ciências Rurais
Prédio 42, Sala 3104 97105-900 - Santa Maria, RS, Brasil
E-mail: cienciarural@mail.ufsm.br
Fone/Fax: (55) 32208698
Fax: (55) 32208695

Composição tipográfica: Fonte tipo Times new Roman tamanho 12, com espaçamento simples.



JOURNAL (Standard article). Ex.:

Chao EC and Lipkin SM (2006). Molecular models for the tissue specificity of DNA mismatch repair-deficient carcinogenesis. *Nucleic Acids Res.* 34: 840-852.

Ranke MB, Lindberg A, Ferrandez Longas A, Darendeliler F, et al. (2007). Major determinants of height development in Turner syndrome (TS) patients treated with GH: analysis of 987 patients from KIGS. *Pediatr. Res.* 61: 105-110.

BOOK, WHOLE: authors, year, book title, edition or volume number, publisher, city. **Ex.:**

Bartholomei-Santos ML and Sokal RR (1973). Numerical taxonomy. W.H. Freeman and Company, San Francisco.

Cicotti and Tildesley DJ (1987). Computer simulation of liquids. 1st edn. Oxford University Press, New York.

BOOK CHAPTER: authors, year, book title, chapter title, editors, edition, publisher, city, pages of citation. **Ex.:**

Drosopoulou E (1981). The Drosophilidae: A Taxonomic Overview. In: The Genetics and Biology of *Drosophila* (Ashburner M, Carson HL and Thompson JN Jr, eds.). Academic Press, New York, 1-97.

REPORT. Ex.:

CIAT (International Center for Tropical Agriculture) (1980). Annual Report. CIAT, Cali. FAO (Food and Agricultural Organization) (2004). Production Yearbook. FAO, Rome.

THESIS. Ex.:

Hellmann K and Gömori G (1997). Estudo citoquímico em glândulas salivares de triatomíneos do gênero *Rhodnius*. Master's thesis, UNESP, São José do Rio Preto.

Pepin L (2003). Aplicação de marcadores microssatélites de *Sus scrofa* doméstica na caracterização genética de populações de *Sus scrofa* sp (porco-monteiro) e *Tayassu pecari* (queixada). Doctoral thesis, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto. **CONFERENCE, SYMPOSIUM**

PROCEEDINGS: cite papers only from published proceedings. **Ex.:**

Lehninger AL, Silva MB, Lombardi F, Zamaro PJA, et al. (2002). Análise do comportamento eletroforético das frações de hemoglobinas de *Rhinoclemys punctularia* (Chelonia) em diferentes pH. In: Anais do 48º Congresso Nacional de Genética, Ribeirão Preto.

Olsen GJ, Ludwig T, Meier H and Wolf MJ (2002). AxML: a fast program for sequential and parallel phylogenetic tree calculations based on the maximum likelihood method. Proceedings of 1st IEEE Computer Society Bioinformatics Conference (CSB2002), Palo Alto, 21-28.

ROSSITER, J. G. de A. Genômica comparativa e filogenia de espécies de fitonematóides e...

Pacheco EB and Miyazawa CS (2002). Estudos citogenéticos em Cheirodontinae (Characiformes, Characidae) do pantanal do Mato Grosso. In: IX Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes, Maringá, 38.

Schaeffer LR, Swalve HH and Dekkers JCM (1994). Random regressions in animal models for test-day production in dairy cattle. Proceedings of the 5th World Congress of Genetic and Applied Livestock Production, Guelph, 433-446.

ELECTRONIC CITATIONS (Online Journals): ensure that URLs are active and available. **Ex.:**

Rozen S and Skaletsky HJ (2000). Primer3: Bioinformatics Methods and Protocols. In: Methods in Molecular Biology (Krawetz S and Misener S, eds.). Humana Press, New Jersey, 365-386. Available at [http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi].

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- [Objetivos e política editorial](#)
- [Instruções gerais](#)
- [Custo para publicação](#)

Objetivos e política editorial

Scientia Agrícola é uma publicação da Universidade de São Paulo, Campus "Luiz de Queiroz" em Piracicaba, uma cidade situada no estado de São Paulo, região sudeste do Brasil. **Scientia Agrícola** tem por objetivo publicar artigos originais que contribuam ao avanço científico das Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

A revista possui amplo espectro de temas, abrangendo Produção Vegetal, Produção Animal, Engenharia Agrícola, Tecnologia Agroindustrial, Ciências Florestais e aplicações nas Ciências Agrárias, Ambientais, do Solo e Biológicas.

Quatro tipos de manuscritos podem ser submetidos: artigos de pesquisa originais, revisões, notas e pontos de vistas.

Artigos originais são agrupados por assunto nas seguintes categorias: Engenharia Agrícola; Microbiologia Agrícola; Agrometeorologia; Ciência Animal e Pastagens; Biometria, Modelagem e Estatística; Fitotecnia; Ecologia; Entomologia; Ciência e Tecnologia de Alimentos; Ciência Florestal; Genética e Melhoramento de Plantas; Fitopatologia; Fisiologia Vegetal e Bioquímica; Solos e Nutrição de Plantas; e Zoologia.

Os artigos publicados na *Scientia Agrícola* são indexados ou resumidos por Current Contents[®]/Agriculture, Biology, and Environmental Sciences, Science Citation Index Expanded (SciSearch[®]), Scopus, DOAJ, CAB Abstracts, SciELO, AGRIS, AGROBASE, Chemical Abstracts, INIS, e Tropag & Rural. Artigos originais avaliados pela Comissão Editorial podem ser submetidos para avaliação por revisores especialistas no tema ou rejeitados sem revisão pelos pares.

Direitos autorais

Uma vez aprovado o manuscrito, os autores devem conceder uma licença exclusiva para publicar o artigo na forma impressa e eletrônica, incluindo fotografias que possam ser selecionadas como imagem de capa.

A lei de direitos autorais requer que os autores forneçam à *Scientia Agrícola* as permissões para uso de materiais publicados por outros periódicos ou editoras, o que inclui figuras, tabelas e imagens. As permissões devem ser inseridas no sistema como um arquivo suplementar.

Instruções gerais

SUBMISSÃO DO MANUSCRITO

- Comece a submissão revendo na íntegra as Instruções aos Autores para garantir que o artigo esteja de acordo com as normas da *Scientia Agrícola*. Para submissão de [revisão](#) os autores devem verificar as instruções específicas. Uma vez que estas páginas são atualizadas periodicamente, recomenda-se fortemente que o autor leia as normas antes da submissão, mesmo que já tenha feito isso anteriormente.

- Por favor, leia a [lista de checagem](#) de conformidade antes de submeter seu manuscrito.
- Os autores devem submeter os manuscritos pelo sistema on-line, acessando o site <http://www.scielo.br/sa>, clicando em "submissão online".
- Manuscritos deverão ser organizados em MS Word para Windows ou num software compatível. Evite o uso de recursos de processamento de texto automatizados, tais como listas e numeração, cabeça e formatação subtítulo, links internos, ou estilos.
- Ao submeter um artigo, os autores devem recomendar cinco revisores qualificados que são especialistas na área de conhecimento abordada, e fornecer os email e filiação. No mínimo dois dos revisores devem ter nacionalidade distinta do autor correspondente. Revisores oriundos da mesma instituição do autor correspondente devem ser evitados.
- A publicação de um resumo ou resumo expandido em um evento científico não é considerada publicação anterior da pesquisa. Entretanto, resultados de pesquisas publicados anteriormente como trabalhos completos em eventos científicos não serão aceitos.
- A lei de direitos autorais requer que os autores forneçam à *Scientia Agricola* as permissões para uso de materiais publicados por outros periódicos ou editoras, o que inclui figuras, tabelas e imagens. As permissões devem ser inseridas no sistema como um arquivo suplementar.
- Não há custo para submissão e avaliação dos manuscritos. Os autores deverão pagar uma taxa de publicação logo após a aceitação do manuscrito.

CARTA DE APRESENTAÇÃO (deve ser escrita em inglês)

- O conteúdo da [carta](#) deve apresentar a garantia de que o artigo é original, não foi publicado anteriormente e não está sendo considerado para publicação na sua forma final em outro lugar, tanto em veículo impresso quanto eletrônico. O autor correspondente deve assinar a carta de apresentação em nome de todos os autores. A carta deve ser inserida em arquivo separado, na área designada dentro do sistema.
- Os autores devem incluir cinco destaques (máximo de 100 caracteres incluindo espaços para cada destaque) explicando a importância do trabalho e como e porque os destaques principais se relacionam com o escopo da revista.

ESTILO DO MANUSCRITO

- Defina o significado das abreviaturas na primeira vez que forem citadas no resumo e no texto, e novamente nas tabelas e figuras. Uma vez que uma abreviação for citada, ela deve ser usada em todo o manuscrito, exceto no início de uma frase.
- O nome latino ou nomenclatura binomial (ou trinomial) e autoria deve ser utilizado quando mencionado pela primeira vez que se menciona todas as plantas, insetos, patógenos e animais.
- Tanto o ingrediente ativo quanto o nome químico da substância de pesticidas devem ser inseridos quando mencionado pela primeira vez.
- Identifique os solos utilizando a taxonomia de solos do USDA (<http://soils.usda.gov/technical/classification/osd/index.html>) até o segundo nível (subordem) ou até o quarto nível (subgrupo). A classificação da FAO também pode ser utilizada até o segundo

nível. A tradução livre do nome e da classificação do solo não é permitida.

- Utilize o Sistema Internacional de Unidades em todo texto.
- Verifique os caracteres gregos e figuras cuidadosamente.
- Certifique-se que exceto quando seguidos por unidades, números de um a dez sejam escritos por extenso. Para quantidades decimais <1, coloque um zero antes do ponto decimal.
- Use ponto (.) como separador decimal.
- Porcentagens devem ser expressas como números inteiros, por exemplo: 35 % em vez de 35,4 %, 48%, em vez de 47,5 %, 79 %, em vez de 78,9 %.
- Utilizar o formato potência negativa para notar e inter-relacionar unidades, e.g.: kg ha⁻¹; não inter-relacione unidades usando a barra vertical, e.g.: kg/ha.
- Utilize um espaço simples entre as unidades, g L⁻¹, e não g.L⁻¹, ou gL⁻¹.
- Use o sistema horário de 24 h, com quatro dígitos para horas e minutos: 09h00, 18h30.
- As datas devem ser escritas: primeiro o dia, depois o mês e o por último o ano: 18 mar. 2000, 01 fev. 1987.
- Abreviar os meses com mais de quatro letras: jan.; fev.; mar. etc.

PREPARAÇÃO DO MANUSCRITO

- Texto e ilustrações submetidos à apreciação pelo corpo editorial devem ser escritos em língua inglesa, segundo as regras ortográficas e gramáticas norte-americanas.
- Manuscritos devem ser organizados em um arquivo denominado documento principal. MS Word ou software compatível devem ser utilizados para preparar o documento principal, fonte Times New Roman 12, 3.0 cm de margens e duplo espaço. Organize o documento principal na seguinte ordem: Página de rosto, Resumo (máximo de 250 palavras), Palavras-chave (máximo de cinco palavras), Introdução (30 linhas), Materiais e Métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos (opcional), Referências, Figuras e Tabelas com suas respectivas legendas.
- O item Conclusão é opcional e, quando utilizado deverá vir após a seção de discussão. O item Resultados e Discussão podem ser combinados e, a conclusão pode ser incorporada à discussão.
- O manuscrito deve ter um máximo de 30 páginas (papel A4); linhas e páginas devem ser numeradas sequencialmente, ilustrações e tabelas inclusive.
- Tabelas e Figuras devem ser incluídas no final do documento principal.

Página de rosto:

- Cada artigo deve conter uma página de rosto contendo o título (máximo de 15 palavras), os nomes completos dos autores, e afiliações completas em inglês.
- Deverá ser fornecido um título abreviado de 40 caracteres ou menos (além do título do trabalho completo).
- Os autores devem selecionar uma categoria: Engenharia Agrícola; Microbiologia Agrícola; Agrometeorologia; Ciência Animal e Pastagens; Biometria, Modelagem e Estatística; Fitotecnia; Ecologia; Entomologia; Ciência e Tecnologia de Alimentos; Ciências Florestais; Genética e Melhoramento de Plantas; Fitopatologia; Fisiologia Vegetal e Bioquímica; Solos e Nutrição de Plantas; e Zoologia.
- O autor correspondente deve ser identificado(a) por um asterisco e um endereço eletrônico institucional do autor(a) correspondente deve ser informado.
- A afiliação/endereço atual dos autores(as) deve ser informado da maneira mais detalhada possível.

- O autor correspondente deverá assumir a responsabilidade plena pelo manuscrito, incluindo o cumprimento das políticas do periódico, e será o contato prioritário com a revista. O autor que submete o artigo pode assumir essa função se indicado na carta de apresentação.

Submissão de imagem para a capa:

A capa da *Scientia Agricola* poderá utilizar uma imagem representativa de um artigo publicado no volume. Os autores são convidados a submeter imagens para a capa que tenham apelo visual e que sejam cientificamente interessantes. As imagens devem ter alta resolução (300dpi) e medir 17 x 17cm. As imagens para a capa podem ser de organismos, habitat, montagens de diferentes imagens, diagramas, mapas ou dados. As ilustrações não precisam estar nos artigos, devem sim ser representativas do trabalho publicado. As imagens devem ser originais e os autores cedem os direitos de publicação exclusivamente a *Scientia Agricola*. Carregue o arquivo contendo a imagem como um arquivo suplementar junto com um arquivo texto que deverá conter uma breve descrição de um parágrafo da imagem relacionando-a com o manuscrito publicado. Se o autor não tiver os direitos autorais da imagem submetida, ele é responsável por obter a permissão necessária para poder utilizá-la.

Tabelas e Figuras

Tabelas:

- Devem ser numeradas sequencialmente com algarismos arábicos, e geradas com a ferramenta "Tabela" do MS Word ou MS Excel (manuscritos contendo tabelas coladas como figuras serão devolvidos aos autores).
- Os títulos das tabelas devem aparecer imediatamente acima do corpo das tabelas.
- Numere figuras e gráficos sequencialmente usando algarismos arábicos.

Figuras/Gráficos:

- Gráficos devem ser gerados em MS Excel.
- Fotografias devem ser apresentadas como arquivo "tagged image format [TIFF]", 300 DPI.
- Numere figuras e gráficos sequencialmente na ordem em que aparecem no texto.
- As figuras devem fornecer informações suficientes para que o leitor possa compreendê-las sem que haja a necessidade da leitura do texto que se refere a elas.
- Para as figuras que contêm mais de um painel, designar os painéis com letras maiúsculas (sem parênteses e sem pontos após as letras) no canto superior esquerdo de cada painel, se possível.
- As palavras utilizadas nas figuras devem ser iguais as utilizadas no manuscrito no que diz respeito à capitalização, itálico e símbolos.

INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

- Manuscritos que avaliem a bioatividade de produtos químicos e/ou biológicos, incluindo reguladores do crescimento, em insetos, ácaros, fungos, bactérias, nematóides e plantas daninhas, não serão objeto de análise para publicação na *Scientia Agricola*.
- Manuscritos que avaliem melhorias ou protocolos de cultura de tecidos baseados no teste de aditivos, explantes ou condições de crescimento, ou ainda que falhem em mostrar uma melhoria substancial que não poderia ser deduzida da literatura existente, não serão considerados para publicação na *Scientia Agricola*.

- Manuscritos baseados em um único experimento de campo não serão considerados para publicação na *Scientia Agricola*, exceto quando os autores puderem comprovar que o estudo é de alta relevância e inovador. Mesmo manuscritos com mais experimentos de campo serão sujeitos a rejeição imediata se os dados coletados não tiverem suficiente variabilidade para se atingir resultados conclusivos.
- Manuscritos que reportem ocorrências ou que sejam simples descrições de pragas, patógenos ou doenças não serão considerados para publicação na *Scientia Agricola*. Excepcionalmente, esses manuscritos poderão ser submetidos como uma Nota desde que: 1) apresentem organismos que sejam de alta relevância para a agricultura; 2) tenham dados originados de uma ampla amostragem; ou 3) apresentem organismos/problemas extensivamente caracterizados por meio de diversos métodos ou outros aspectos sob investigação.
- Artigos que envolvam experimentos com animais vivos (incluindo seres humanos) devem demonstrar que foram realizados de acordo com as normas éticas locais. Espera-se que os autores tenham realizado o estudo seguindo as boas práticas éticas. Tais evidências devem estar oficialmente apresentadas na seção "Material e Métodos", descrevendo que o estudo foi previamente aprovado pelo comitê de ética apropriado (incluindo o número do processo).
- Os manuscritos devem obedecer aos critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais de cada área.
- Os conceitos e opiniões contidos nos artigos são de exclusiva responsabilidade dos(as) autores(as).
- Todos os trabalhos recebidos serão submetidos à política da revista para detecção de plágio e autoplágio.

Referências Bibliográficas

Scientia Agricola não permite aos autores citar resumos de congressos ou workshops, artigos técnicos, dissertações ou teses. Referências em português ou qualquer outra língua que não seja a inglesa deverão ser limitadas àquelas que sejam essencialmente importantes para o estudo. Até quatro referências escritas em outras línguas que não seja o inglês serão permitidas sem necessidade de justificativas. No entanto, mais do que isso somente será permitido se os autores apresentarem justificativa circunstanciada para mantê-las no texto. Se aceitas pelo Editor-Chefe, todas as referências nessa situação deverão ser citadas em inglês com a língua original devendo ser apresentada ao final da referência, da seguinte forma: (in Portuguese, with abstract in English).

Scientia Agricola não recomenda que os autores citem análises estatísticas ou soluções de softwares como referências. Essas ferramentas devem ser mencionadas no texto (Material e Métodos) ao incluir a análise específica e o nome do software, sua versão e/ou ano de lançamento. Por exemplo, "... a análise estatística foi realizada utilizando o PROC NLIN no SAS (Statistical Analysis System, versão 9.2)".

As referências e citações para artigos da *Scientia Agricola* serão formatadas utilizando o estilo de formato mínimo 'autor, ano' ou 'nome (ano)'. Checar se todas as citações no texto constam da lista de referências bibliográficas. Os exemplos:

1. Apenas um autor: Reichardt (2000) ou (Reichardt, 2000).
2. Dois autores: Fiorio and Demattê (2009) ou (Fiorio and Demattê, 2009).
3. Três ou mais autores: Rosso et al. (2009) ou (Rosso et al., 2009).

4. Organizar as referências em ordem alfabética e cronologicamente dentro de parênteses, e use (;) ponto e vírgula para separar citações múltiplas dentro de parênteses, por exemplo: (Boleli, 2003; Boerjan, 2006; Muraroli and Mendes, 2003).

5. Identificar múltiplas citações 'mesmo autor, mesma data' com a ajuda de letras minúsculas, por exemplo: (Cyrino, 2004a, b).

6. Usar o estilo "autor-ano" para ordenar a lista de referências, e: (i) abreviar os primeiros e segundos nomes dos autores, mas nenhuma outra palavra; (ii) usar letras maiúsculas para todos os acrônimos, isto é, quando o autor for uma organização; (iii) utilizar letras maiúsculas para a 1ª letra do sobrenome e demais iniciais dos autores, que deverão ser separados por um ponto (.); (iv) separar autores por ponto-e-vírgula; (v) não usar "e comercial" (&) nas citações, nem na lista de referência; (vi) não usar caracteres grifados ou negritados para destacar qualquer parte da referência; (vii) usar letras maiúsculas na 1ª letra dos títulos de livros e de periódicos; (viii) não usar vírgula (,) para separar o título e o volume do periódico; (ix) separar os números de volume do periódico das páginas por dois pontos (:); (x) usar os números completos das páginas; (xi) separar os números de página por um traço (-); (xii) separar os grupos de páginas por uma vírgula se o artigo foi publicado em páginas descontinuas; (xiii) indicar o número da edição de um livro ou manual como "2ed", por exemplo; (xiv) sobre livros e manuais, indicar os editores ou a editora antes de discriminar a localidade sede dos editores ou da editora; (xv) separar os editores ou a editora da localidade por meio de uma vírgula (,); e (xvi) nestes casos, declarar os nomes da cidade, do estado e do país.

6.1 Revistas/Periódicos Científicos

Guillard, R.R.L.; Wangersky, P. 1958. The production of extracellular carbohydrates by some marine flagellates. *Limnology and Oceanography* 3: 449-454.

6.2 Livros

6.2.1 Livros com autores

Pais, I.; Jones Jr., J.R. 1998. *The Handbook of Trace Elements*. St. Lucie Press, Boca Raton, FL, USA.

6.2.2 Livros com editores/organizadores

Day, W.; Atkin, R.K., eds. 1985. *Wheat Growth and Modelling*. Plenum Press, New York, NY, USA.

6.2.3 Livros (e manuais) com organização/instituição como autor ou editora/organizadora

Association of Official Analytical Chemists - International [AOAC]. 2005. *Official Methods of Analysis*. 18ed. AOAC, Gaithersburg, MD, USA.

6.3 Capítulo de Livro

Sharpley, A.N.; Rekolainen, S. 1997. Phosphorus in agriculture and its environmental implications. p. 1-53. In: Tunney, H.; Carton, O.T.; Brookes, P.C.; Johnston, A.E., eds. *Phosphorus loss from soil to water*. CAB International, New York, NY, USA.

6.4 Fontes eletrônicas

6.4.1 Elementos necessários para listar citações disponíveis on-line:

A autoria, autor ou fonte. Ano. O título do documento da web ou página da web (isto é, título principal da página). [meio] (data de atualização). Disponível em: endereço completo para localizar o recurso (URL / endereço) [Accessed Sept 19, 1992]

6.4.2 Elementos necessários para listar publicações disponíveis on-line:

A autoria, autor ou fonte. Ano. O título do documento ou página da

web. [meio] Produtor/Editor. Disponível em: endereço completo para localizar o recurso [Accessed Sept 19, 1992]

6.5 Listagem de referências não escritas em inglês

Fornecer o título em inglês e indicar a língua original de publicação da revista ao final da referência, como exemplo abaixo:
Baretta, D.; Santos, J.C.P.; Figueiredo, S.R.; Klauberg-Filho, O. 2005. Effects of native pasture burning and Pinus monoculture on changes in soil biological attributes on the Southern Plateau of Santa Catarina - Brazil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 29: 715-724 (in Portuguese, with abstract in English).

Mingoti, A.S. 2005. Data analysis using multivariate statistics methods: an applied approach. = *Análise de Dados Através de Métodos de Estatística Multivariada: uma abordagem aplicada*. Editora UFMG, Belo Horizonte, MG, Brazil (in Portuguese).

Custo para publicação

R\$ 116,00 por página, até sexta página impressa no formato final

R\$ 174,00 por página adicional

[\[Home\]](#) [\[Sobre a revista\]](#) [\[Corpo editorial\]](#) [\[Assinaturas\]](#)



Todo o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma [Licença Creative Commons](#)

USP/ESALQ - Scientia Agrícola
Av. Pádua Dias, 11
13418-900 Piracicaba SP Brasil
Tel.: +55 19 3429-4401 / 3429-4486
Fax: +55 19 3429-4401



scientia@usp.br