



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS  
AGRÁRIAS  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA



PEDRO CARVALHO VIEIRA CAVALCANTE

**USO DE TÉCNICAS MOLECULARES PARA DETECÇÃO, MONITORAMENTO E  
CONTROLE DE FITONEMATOIDES.**

Rio Largo/AL

2021

PEDRO CARVALHO VIEIRA CAVALCANTE

**USO DE TÉCNICAS MOLECULARES PARA DETECÇÃO, MONITORAMENTO E  
CONTROLE DE FITONEMATÓIDES.**

Trabalho de conclusão de curso  
apresentado ao Campus de  
Engenharia e Ciências Agrárias como  
parte dos requisitos para obtenção do  
título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Dr. Karlos Antônio  
Lisboa Ribeiro Júnior

Rio Largo  
2021

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias**  
Bibliotecária Responsável: Myrtes Vieira do Nascimento

C376u Cavalcante, Pedro Carvalho Vieira

Uso de técnicas moleculares para detecção, monitoramento e controle de fitonematóides. / Pedro Carvalho Vieira Cavalcante. – 2022.  
50 f.; il.

Monografia de Graduação em Agronomia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Federal de Alagoas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias. Rio Largo, 2022.

Orientação: Prof. Dr. Karlos Antonio Lisboa Ribeiro Junior

Inclui bibliografia

1. Nematóides. 2. Manejo de pragas. 3. PCR. I. Título.


CDU 57

# FOLHA DE APROVAÇÃO

PEDRO CARVALHO VIEIRA CAVALCANTE

## ***USO DE TÉCNICAS MOLECULARES PARA DETECÇÃO, MONITORAMENTO E CONTROLE DE FITONEMATÓIDES.***


Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Campus de Engenharias e Ciências Agrárias como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo e aprovado em 25 de fevereiro de 2022.

Documento assinado digitalmente  
 Karlos Antonio Lisboa Ribeiro Junior  
Data: 10/03/2022 11:15:00-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---


Dr. Karlos Antônio Lisboa Ribeiro Júnior –  
Universidade Federal de Alagoas (Orientador)

### **Banca examinadora:**

Documento assinado digitalmente  
 Vanderson Barbosa Bernardo  
Data: 10/03/2022 13:54:46-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

Dr. Vanderson Barbosa Bernardo –  
Instituto de Química e Biotecnologia (IQB)/ Universidade Federal de Alagoas

Documento assinado digitalmente  
 THYAGO FERNANDO LISBOA RIBEIRO  
Data: 10/03/2022 14:51:02-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

Dr. Thyago Fernando Lisboa Ribeiro –  
Secretaria de Estado da Educação – Alagoas (SEDUC-AL)

Dedico esta conquista aos meus pais que nunca mediram esforços para me ajudar, Rogéria Lúcia de Carvalho Vieira Cavalcante e Luciano Cavalcante da Silva; meu porto seguro, incentivo e apoio em todos os momentos da minha vida.

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente aos meus pais, Rogéria Lúcia de Carvalho Vieira Cavalcante e Luciano Cavalcante da Silva, que sempre me apoiaram e acreditaram em mim.

À Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA) e todos os seus funcionários.

A todos os meus colegas e amigos de graduação, que me ajudaram nessa caminhada, pois ninguém é forte sozinho.

Ao Prof. Dr. Karlos Antônio Lisboa Ribeiro Júnior, pela oportunidade, ensinamento, paciência e apoio para a realização desse trabalho.

Dr. Alessandro Riffel (*in memoriam*), pesquisador da EMBRAPA Tabuleiros Costeiros, a pessoal que eu só ouço elogios por parte de outros colegas de trabalho.

## RESUMO

Os fitonematóides estão entre os principais problemas fitossanitários das culturas perenes no Brasil e no Mundo. As estimativas de perda em nível global são da ordem de bilhões de dólares, oriundas da diminuição anual da safra, em média 12,3% das perdas anuais em torno das 40 principais culturas. Estima-se que esse percentual nos países em desenvolvimento supere os 14% e em nações desenvolvidas, fique em patamares abaixo de 10%. Para mitigar esse cenário de perdas, algumas estratégias têm sido desenvolvidas, para minorar esses impactos, dentre eles podemos destacar a escolha de métodos eficientes para o manejo desses parasitas no campo. Nos últimos anos com os avanços tecnológicos e o advento das ferramentas moleculares, estas estão cada vez mais sendo empregadas para determinar a identificação, monitoramento e até o controle. Técnicas que usam de moléculas para a detecção possuem algumas vantagens em comparação aos métodos mais tradicionais devido a sua precisão e especificidade. Para o controle de fitonematoides, ferramentas moleculares estão sendo usadas cada vez mais aplicadas no campo com a finalidade de: silenciar genes, importantes para o desenvolvimento da praga; desenvolvimento de variedades resistentes; detecção do patógeno na planta; identificação precisa da espécie. O presente trabalho teve como objetivo avaliar, por meio de pesquisa bibliográfica, o uso de ferramentas moleculares utilizadas em várias esferas do controle de nematoides parasitas de plantas, como na sua identificação, monitoramento e o próprio controle. No tocante a utilização destas técnicas moleculares para a identificação, técnicas de amplificação (PCR) e sequenciamento como as técnicas (NGS), estavam presentes em 97% e 19%, respectivamente, dos artigos selecionados. Quanto a técnica molecular usada para o controle, RNA interferência (RNAi) foi observada em 44% dos artigos selecionados, sendo a principal para tal finalidade. No Brasil as principais técnicas moleculares utilizadas são as técnicas de amplificação genética (PCR e qPCR) e sequenciamento de nova geração (NGS).

**Palavras chave:** Nematoides; Manejo integrado de Pragas; PCR em tempo real; RNAi.

## **ABSTRACT**

Phytonematodes are among the main phytosanitary problems of perennial crops in Brazil and worldwide. Estimates of loss at a global level are in the order of billions of dollars, arising from the annual decrease in the harvest, on average 12.3% of the annual losses around the 40 main crops. It is estimated that this percentage in developing countries exceeds 14% and in developed nations, it is below 10%. To mitigate this scenario of losses, some strategies have been developed to reduce these impacts, among them we can highlight the choice of efficient methods for the management of these parasites in the field. In recent years with technological advances and the advent of molecular tools, these are increasingly being used to determine identification, monitoring and even control. Techniques that use molecules for detection have some advantages compared to more traditional methods due to their precision and specificity. For the control of phytonematodes, molecular tools are being used more and more applied in the field with the purpose of: silencing genes, important for the development of the pest; development of resistant varieties; detection of the pathogen in the plant; precise species identification. The present work aimed to evaluate, through bibliographic research, the use of molecular tools used in various spheres of plant parasitic nematodes control, such as their identification, monitoring and control itself. Regarding the use of these molecular techniques for identification, amplification techniques (PCR) and sequencing techniques as well as (NGS) techniques were present in 97% and 19%, respectively, of the selected articles. As for the molecular technique used for control, RNA interference (RNAi) was observed in 44% of the selected articles, being the main one for this purpose. In Brazil, the main molecular techniques used are genetic amplification techniques (PCR and qPCR) and next-generation sequencing (NGS).

**Keywords:** Nematodes; Integrated Pest Management; RT-PCR; RNAi.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Relação entre plantas hospedeiras e nematoides parasita. ....	13
<b>Figura 2.</b> Prejuízos causados por nematoides no Brasil, 2015. ....	14
<b>Figura 3.</b> Processos e componentes da polymerase chain reaction (PCR). ....	18
<b>Figura 4.</b> Processos da reação loop-mediated isothermal amplification (LAMP). ....	20
<b>Figura 5.</b> Mecanismo de RNA interference (RNAi). ....	21
<b>Figura 6.</b> Etapas do next generation sequencing (NGS). ....	23

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Porcentagem dos 32 artigos selecionados, por ano. ....	27
<b>Gráfico 2.</b> Países correspondentes dos 32 artigos selecionados. ....	28
<b>Gráfico 3.</b> Número de vezes que a cultura foi estudada nos 32 artigos selecionados. ....	28
<b>Gráfico 4.</b> Número de vezes que o gênero do nematoide foi estudado nos 32 artigos selecionados. ....	30
<b>Gráfico 5.</b> Número de vezes que as técnicas moleculares foram usadas nos 32 artigos selecionados.....	32
<b>Gráfico 6.</b> Número de finalidades presentes nos artigos selecionados.....	34

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Número por espécie nos 3 gêneros de nematoides mais estudados nos artigos selecionados. ....	30
<b>Tabela 2.</b> Número de vezes que as técnicas de PCR foram usadas nos 32 artigos selecionados.....	32
<b>Tabela 3.</b> Número de vezes que as técnicas de RNAi foram usadas nos 32 artigos selecionados.....	32

## LISTA DE ABREVIATURAS e SIGLAS

DNA	DEOXYRIBONUCLEIC ACID
RNA	RIBONUCLEIC ACID
EUA	ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA
RNAi	RIBONUCLEIC ACID INTERFERENCE
PCR	POLYMERASE CHAIN REACTION
qPCR	QUANTITATIVE POLYMERASE CHAIN REACTION
qRT-PCR	QUANTITATIVE REVERSE TRANSCRIPTION POLYMERASE CHAIN REACTION
mRNA	MESSENGER RIBONUCLEIC ACID
LAMP	LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION
dsRNA	DOUBLE-STRANDED RIBONUCLEIC ACID
HD-RNAi	HOST-DELIVERED RIBONUCLEIC ACID INTERFERENCE
HIGS	HOST-INDUCED GENE SILENCING
siRNA	SMALL INTERFERING RIBONUCLEIC ACID
RISC	RIBONUCLEIC ACID INDUCED SILENCING COMPLEX
NGS	NEXT GENERATION SEQUENCING
SARS-CoV-2	SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME CORONAVIRUS 2
Covid-19	CORONAVIRUS DISEASE 2019
cDNA	COMPLEMENTARY DNA
SciELO	SCIENTIFIC ELECTRONIC LIBRARY ONLINE
CCN	CEREAL CYST NEMATODE
PWN	PINEWOOD NEMATODE
<i>Spp</i>	ESPÉCIES
<i>Sp</i>	ESPÉCIE
PCR-HRM	REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION – HIGH RESOLUTION MELT
dPCR	DIGITAL POLYMERASE CHAIN REACTION
PCR-RFLP	POLYMERASE CHAIN REACTION RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM
MIP	MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>12</b>
<b>2.1. OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>12</b>
<b>2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>12</b>
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
<b>3.1. NEMATOIDES PARASITAS DE PLANTAS.....</b>	<b>13</b>
<b>3.2. TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS NA IDENTIFICAÇÃO, MONITORAMENTO E CONTROLE DE FITONAMATOIDES .....</b>	<b>15</b>
<b>3.2.1. TÉCNICAS DE AMPLIFICAÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>3.2.2. TÉCNICAS DE RNAi .....</b>	<b>20</b>
<b>3.2.3. SEQUENCIAMENTO DE ÚLTIMA GERAÇÃO (NGS- Next Generation Sequencing).....</b>	<b>22</b>
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>25</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>27</b>
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>35</b>
<b>7. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>36</b>
<b>8. MATERIAL SUPLEMENTAR .....</b>	<b>46</b>



## 1. INTRODUÇÃO

Os fitonematoides estão entre os principais problemas fitossanitários das culturas perenes no Brasil. A presença desses parasitas é intensificada devido às práticas inadequadas do sistema de cultivo, como o uso contínuo e intensivo das áreas cultivadas com culturas hospedeiras suscetíveis, que propiciam um rápido aumento da população desses parasitas, associadas ao trânsito de máquinas e implementos agrícolas entre diferentes áreas, as quais facilitam a rápida dispersão desses organismos nas áreas (PERINA et al., 2015).

Por conta disso em Mato Grosso, 98% dos solos apresentam indícios de fitonematoides em quase todas as culturas, chegando ao ponto de determinadas áreas, produtores abandonarem as terras por se tornarem improdutivas devido à infestação (MACHADO, 2015).

Apesar da tendência do menor uso de pesticidas, a dependência por estes métodos químicos ainda é um problema atual, para amenizar, tradicionalmente o controle é feito de forma integrada com outros métodos, como: o biológico, sendo uma forma alternativa que utiliza de inimigos naturais para reduzir a praga; o método cultural, que podem ser, rotação de cultura, consórcio entre outros; melhoramento genético, servindo se de variedades resistentes (MARCELINO et al., 2020). Essa junção de manejos é conhecida como manejo integrado de pragas (MIP).

Um ponto importante para a escolha da estratégia eficiente para o controle do nematoide é a identificação precisa da espécie, um mesmo sintoma pode ser causado por diversos tipos, como os nematoides do nó da raiz ou galha do gênero *Meloidogyne* que possui várias espécies que podem apresentar esse mesmo sintoma na mesma cultura (GOULART, 2010).

Os métodos mais utilizados para a identificação são, a taxonomia clássica que usa de conhecimentos morfométricos e morfológicos, mas se limita pelo número de características taxonômicas, e a bioquímica que usa fenótipos de isoenzimas como a esterase, para a identificação, por exemplo, de algumas espécies de nematoides, esse método está limitado pela necessidade de fêmeas adultas, geralmente essas técnicas vêm em consórcio para uma melhor identificação (CUNHA et al., 2018).

Nos últimos anos com os avanços tecnológicos e o advento das ferramentas moleculares, estas estão cada vez mais sendo aprimoradas e usadas, para auxiliar na identificação, monitoramento e até controle (RUTHS; MACEDO; NASCIMENTO, 2017). As ferramentas que usam de moléculas para a detecção possuem algumas vantagens em comparação aos métodos mais tradicionais, primeira é que podem ser usadas em alto rendimento; as informações com relação ao DNA podem ser obtidas prontamente através dos

grandes bancos de dados de sequenciamento de DNA; independente da variação fenotípica e do estágio de desenvolvimento, o fitonematoide vai ser identificado pelos marcadores de DNA; além disso, podem ser mais rápidos, precisos, e o custo em relação aos reagentes e equipamentos estão cada vez mais acessíveis (CARNEIRO; LIMA; CORREIA, 2017).

Para o controle de fitonematoídes, ferramentas moleculares estão sendo usadas cada vez mais para silenciar genes importantes para o desenvolvimento da praga, desenvolvimento de variedades resistentes, detecção do patógeno na planta, identificação precisa da espécie e uma forma mais eficiente e ecologicamente correta para o controle desses patógenos.



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

O presente trabalho tem como objetivo avaliar, por meio de pesquisa bibliográfica, o uso de ferramentas moleculares utilizadas em várias esferas do controle de nematoides parasitas de plantas, como na identificação, monitoramento e o próprio controle.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar a principal técnica molecular usada no controle de fitonematoides.
- Descrever a diversidade de tecnologias usadas contra estes patógenos.
- Avaliar a eficiência destas técnicas moleculares na identificação, monitoramento e controle.
- Verificar quais destas técnicas são mais utilizadas no Brasil.

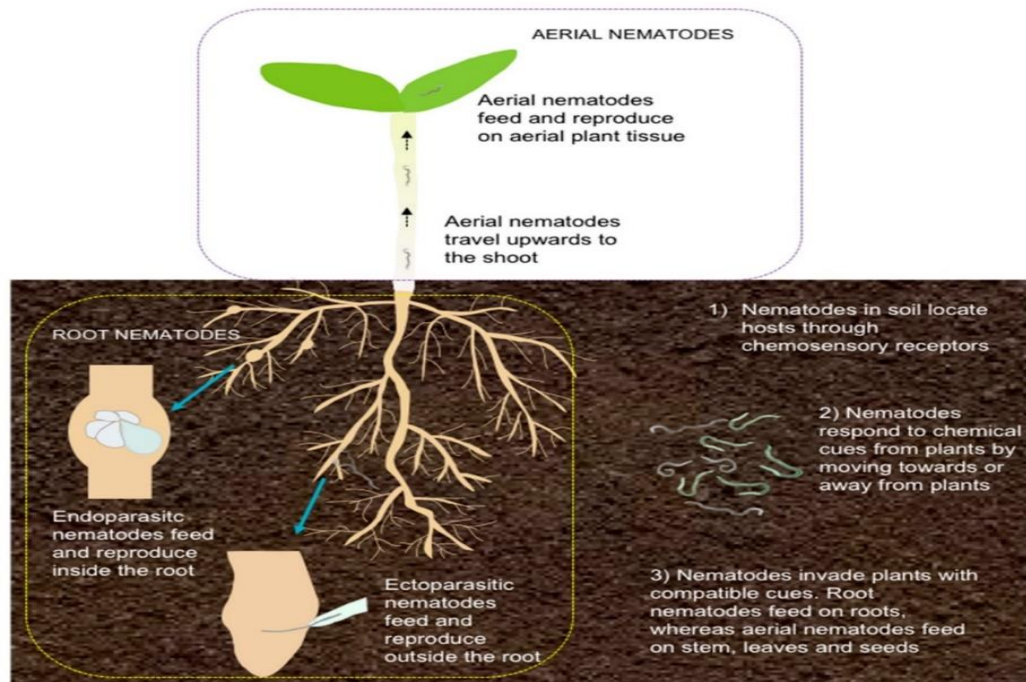
### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. NEMATOIDES PARASITAS DE PLANTAS

Nematoides são organismos pluricelulares com maior abundância no mundo, se desenvolvem em ambientes úmidos, possuem corpo tubular, alongado, transparente e do tipo filiforme, o que confere a eles um aspecto de fio (FERRAZ; BROWN, 2016) (TEJO; FERNANDES; BURATTO, 2020).

Estes organismos podem habitar o solo, no qual se encontram em órgãos subterrâneos de diversas espécies vegetais como raízes, rizomas, tubérculos e bulbos. Ocasionalmente, tais nematoides parasitam plantas através de suas estruturas subterrâneas, resultando em diversos prejuízos para a cultura, sendo denominados fitonematoides. Todavia, existem espécies de nematoides que parasitam plantas por outras estruturas como as folhas (AMORIM; REZENDE; BERGAMIN FILHO, 2018). A relação plantas hospedeiras e nematoides parasitas pode ser observada na Figura 01.

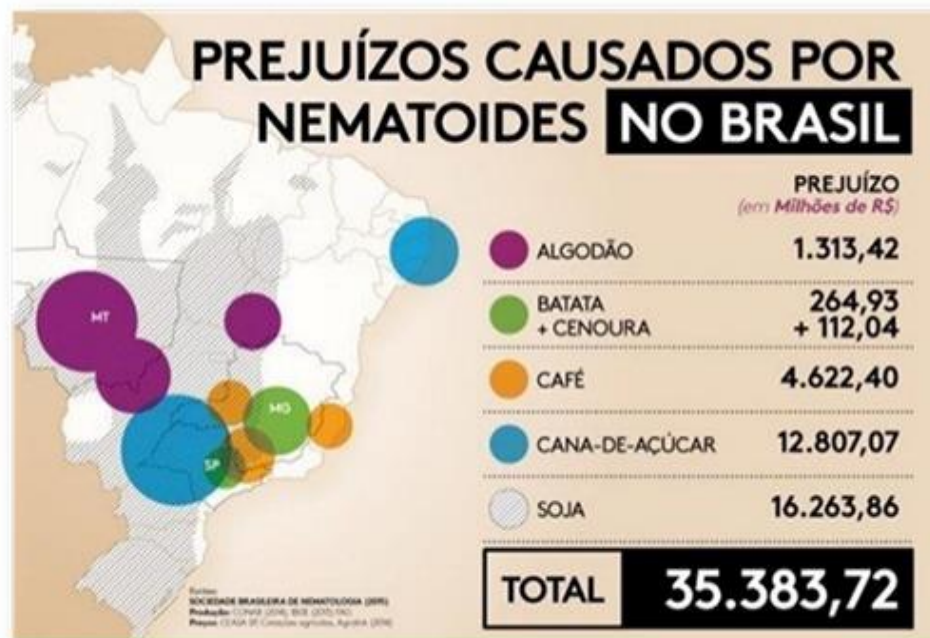
**Figura 1.** Resumo da relação entre plantas hospedeiras e nematoides parasitas. Os nematoides respondem a estímulos químicos das plantas movendo-se em direção ou longe das plantas, nematoides invadem plantas com pistas compatíveis. As plantas hospedeiras são infectadas por nematoides de raízes e aéreos. Os nematoides das raízes incluem ecto e endoparasitas.



Fonte: Chin; Behn; Matheus (2018).

Os fitonematoides são uma causa relevante para a limitação do desenvolvimento de plantas, por serem parasitas obrigatórios se reproduzem e multiplicam-se usando os nutrientes necessários para as plantas, até atingirem certo dano, além de injetarem substâncias tóxicas nas células que geram aparecimento de galhas ou cistos, e escurecimento do tecido devido a lesões no tecido vegetal e destruição de células, esses danos facilitam a infecção de outros patógenos a planta como fungos e bactérias (TEJO; FERNANDES; BURATTO, 2020). Isso as torna uma ameaça grave para uma diversidade de plantas agrícolas economicamente importantes. As perdas são estimadas em 173 bilhões de dólares de rendimento anual da safra em escala global, e em média 12,3% das perdas anuais em 40 das principais safras, 14,6% nos países em desenvolvimento e 8,8% nas nações desenvolvidas (KUMAR; KHAN; WALIA, 2020). No Brasil para se ter uma noção do prejuízo que os fitonematoides podem causar na agricultura, somente em soja, os danos na produção podem chegar em R\$ 16,3 bilhões, dados estimados pela Sociedade Brasileira de Nematologia em 2015 (MACHADO, 2015). Prejuízos estimados em outras culturas, como cana-de-açúcar, café e prejuízo total para a agricultura no Brasil podem ser observados na Figura 2.

**Figura 2.** Prejuízos causados por nematoides no Brasil, 2015.



Source: Sociedade Brasileira de Nematologia 2015

Fonte: Syngenta (2021).

Considerando a importância econômica e científica do fitonematoide, o gênero *Meloidogyne* spp. aparece em destaque no topo da lista, pela sua distribuição geográfica global e a variedade de hospedeiros, além de, em conjunto com fungos e bactérias causar doenças na planta hospedeira (BERNARD; EGNIN; BONSI, 2017a). Também conhecidas como

nematoides de galha, caracterizada pela típica formação de anomalias nas raízes, como células gigantes, denominada galha, causada pelo sítio de alimentação (CHI et al., 2016). Abrange mais de 100 espécies, as de maior importância agrícola são: *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla*. (BERNARD; EGNIN; BONSI, 2017a).

Em segundo lugar na classificação de importância agrícola, estão os denominados nematoides do cisto, *Heterodera* spp. e *Globodera* spp., apelido devido ao ciclo, que após a morte da fêmea forma uma estrutura protetora, denominada cisto, com seu corpo onde armazena os ovos (BERNARD; EGNIN; BONSI, 2017a). As espécies de maior relevância são: *Heterodera glycines*, cisto da soja, responsável por mais de US \$1 bilhão de perda de rendimento anual nos EUA (GE et al., 2018); *Heterodera avenae*, *H. filipjevi*, e *H. latipons*, nematoides do cisto de cereais, às três espécies mais economicamente importantes para os cereais, com sérios danos as safras de cereais em todo mundo, principalmente em regiões temperadas (CUI et al., 2017); *Globodera* spp. correspondem as principais pragas da cultura da batata, responsáveis por 9% das perdas totais, e dentro destas, *Globodera rostochiensis* e *G. pallida* as principais (MHATRE et al., 2021).

Existem outras lesões causadas pelos nematoides parasitas de plantas, como nematoides de lesão, *Pratylenchus* spp., que na classificação de importância está em terceiro lugar, com uma gama de mais de 400 espécies que podem ser hospedeiras, e os nematoides escavadores, *Radopholus similis*, presente na lista de pragas em quarentena em todo o mundo, e também com uma enorme gama de hospedeiros (BERNARD; EGNIN; BONSI, 2017a).

### **3.2.TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS NA IDENTIFICAÇÃO, MONITORAMENTO E CONTROLE DE FITONAMATOIDES**

As técnicas moleculares vêm sendo amplamente utilizadas na agricultura, pois, têm demonstrado grandes melhorias na qualidade e produtividade: como redução de perdas por estresse biótico e abiótico, com a adição ou ativação de genes que expressem mecanismos de defesa; melhoria e amplificação de genes reguladores de crescimento, ou até níveis de proteínas, carboidratos, extraindo e garantindo o máximo potencial da cultivar na produção agrícola; ou até utilização de informações genéticas para o monitoramento e tomada de decisões para o manejo, quanto a regulação da maturidade, processos importantes do crescimento para a colheita, irrigação e fertilização, garantindo a eficiência no manejo (FANG et al., 2016).

Técnicas moleculares também vêm desempenhando papel importante para a identificação e controle de nematoides parasitas de plantas. No aspecto da identificação, ela vem apresentando vantagens em relação à identificação tradicional, morfológica e

morfométrica, e até bioquímica que utiliza de isoenzimas para identificação de espécies. Nematoides são um dos seres vivos mais difíceis de serem identificados, devido ao seu tamanho microscópico, e a dificuldade de reconhecer caracteres morfológicos ou morfométricos específicos. Devido ao tamanho, sutileza, ou até a junção deles e variações intraespecíficas dos caracteres, são fatores que podem induzir ao erro da identificação, isso gera uma necessidade de taxonomistas muito bem treinados e experientes, que estão cada vez mais em déficit, devido a desinteresse da nova geração na taxonomia mais clássica (CARNEIRO; LIMA; CORREIA, 2017).

Fazendo as comparações dessas formas mais tradicionais de identificação, morfométrica, morfológica, e até a bioquímica, a molecular, que usa expressões genéticas, apresenta muito mais informações e maior possibilidades de utilização e podem ser usadas sem a necessidade e influência dos estágios de desenvolvimento do parasita, órgão da planta e alguns fatores ambientais. Essas técnicas moleculares também vem sendo utilizadas para identificar variedades da cultura, avaliar a evolução de caracteres agrônomicas importantes, melhoramento genético acompanhado da cultivar e até conservação e aferição de germoplasma de plantas (FANG et al., 2016).

No controle, técnicas moleculares vêm sendo utilizadas ao nível de modificação genética, como a supressão de genes importantes para o patógeno para o sucesso da sua disseminação, como reprodução ou outros processos metabólicos. A forma de entrega de genes supressores pode ser feita de maneira que o próprio hospedeiro a entrega, criando uma variedade de planta resistente através do melhoramento genético de forma sintética, esses genes supressores também podem ser entregues por bactérias ou fungos. Para a localização desses genes fundamentais para a sobrevivência e disseminação do fitonematoide, entra a utilização de técnicas moleculares de identificação (DUTTA et al., 2020).

Técnicas moleculares estão sendo usadas para o monitoramento geográfico onde há atividade agrícola, desta forma pode se ter o conhecimento de forma quantitativa do grau de infecção e o avanço em áreas próximas, e até o descobrimento de variações da espécie ou novas espécies, conhecimento importante para determinar a estratégia de manejo adequado para o controle e evitar a instalação de determinado patógeno em áreas que antes não existiam (BELL et al., 2021).

Um ponto importante é o número de laboratórios que fazem diagnóstico de fitonematoides vem crescendo, isso se deve ao aumento da disseminação, ocorrência, densidade

e danos desses parasitas de planta nos campos, decorrente de estratégias de controle falhos. Para esse caso a utilização de métodos de identificação rápidos e precisos para o diagnóstico ao nível de até subespécie, se torna de fundamental importância para a escolha adequada do manejo de controle; para impedir a dispersão de parasitos exóticos no mundo; ou avaliar a ocorrência de variabilidade genética. O interesse na utilização de técnicas moleculares para a identificação, monitoramento e controle, está gerando uma abundância de informação e bancos de dados genéticos dos sequenciamentos de genoma de nematoides e plantas, isso ajuda cada vez mais a realização de comparação entre os genomas e encontra regiões alvo que podem ser utilizadas como marcadores de diagnóstico (CARNEIRO; LIMA; CORREIA, 2017); assim como a identificação de transcritos referentes a resposta imune, sistema de defesa de plantas a nematoides, ou genes responsáveis por processos metabólicos dos nematoides, para a utilização da criação de variedades resistentes ou outros métodos de controle, como o RNAi (BERNARD; EGNIN; BONSI, 2017b).

Nos tópicos seguintes serão apresentadas algumas das mais relevantes e utilizadas técnicas para a identificação, monitoramento ou controle de nematoides parasitas de plantas.

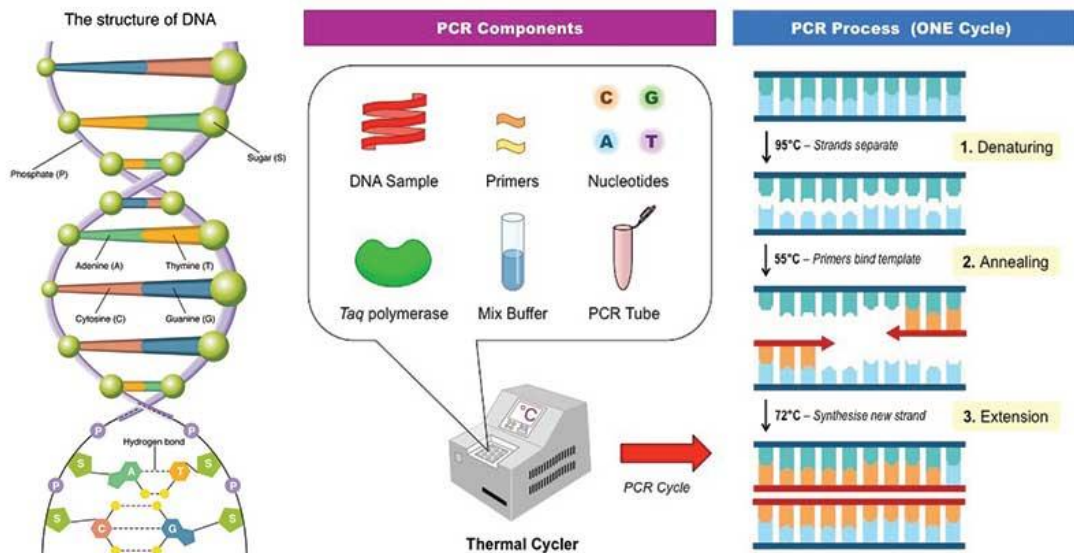
### **3.2.1. TÉCNICAS DE AMPLIFICAÇÃO**

Para a identificação através de nível molecular, é preciso reconhecer a parte específica do gene que desempenhe uma específica função, esse reconhecimento pode ser feito através de técnicas de amplificação. A PCR abreviação do inglês polymerase chain reaction, traduzindo em reação em cadeia da polimerase, é uma técnica de ampliação de segmentos selecionados de DNA, que reproduz uma grande quantidade de cópias a partir destes segmentos. Técnica pensada no início dos anos 80 por Kary Mullins, e hoje serve de base para muitas técnicas biomoleculares modernas, foi uma técnica que revolucionou, ao invés de um mês para se conseguir abundância de genes direcionados, passou para um dia de trabalho (RUTHS; MACEDO; NASCIMENTO, 2017).

Para o sucesso da realização de um PCR, é de fundamental importância ter os oligo nucleotídeos iniciadores conhecidos como primers, que realiza o direcionamento da reação de ampliação do segmento específico do genoma com eficiência e impede a ampliação do segmento não desejado, não só para PCR tradicional, mas também para qualquer técnica baseada nela, essas técnicas baseadas em PCR representam a segunda geração de técnicas

moleculares largamente utilizadas (RODRIGUES, 2017). O esquema dos processos da PCR pode ser observado na Figura 3.

**Figura 3.** Processos e componentes da polymerase chain reaction (PCR). Na primeira etapa, ocorrer a desnaturação da molécula de DNA; segunda etapa, anelamento com o primers que faz o direcionamento para os segmentos desejados; terceira etapa, extensão dos segmentos.



Fonte: Bonjour (2021).

Apesar da inovação da PCR, ela apresenta algumas limitações, como a identificação com baixo rendimento e é trabalhosa. Anos depois de sua criação, em 1992 desenvolvida por Higuchi e colaboradores, a técnica baseada em PCR convencional, a PCR em tempo real ou quantitative PCR (qPCR), apresenta algumas qualidades em relação a convencional, como o processo de ampliação, localização e a quantificação, que é a principal característica nos resultados, serem de forma conjunta e serem observadas em tempo real durante o processo, além de ser uma das mais precisas para a quantificação de genes determinados (RUTHS; MACEDO; NASCIMENTO, 2017). Na qPCR, marcadores fluorescentes são acrescentados nas cópias do gene selecionado e amplificados, possibilitando a quantificação certa destes e em tempo real nas cópias (SEESAO et al., 2017). A vantagem de ser em tempo real é que dispensa o processamento de pós-reação de amplificação como na PCR tradicional, o que pode acarretar erro em alguns casos (CARNEIRO; LIMA; CORREIA, 2017). Esse processo de dispensa do processamento de pós amplificação com os resultados rapidamente disponíveis, em menos de 3 horas enquanto a PCR convencional é um dia no laboratório, gerando uma economia de custo

e tempo, além de ser simples para adaptar para o alto rendimento, análise de muitas amostras (BRAUN-KIEWNICK; KIEWNICK, 2018).

Uma variação dessa técnica de PCR convencional e qPCR é a PCR quantitativa com transcrição reversa em tempo real, abreviação do nome inglês fica qRT-PCR, que possui a vantagem em relação a convencional de diferenciar células viáveis e não viáveis, usado para não detectar células mortas, por apresentar mRNA como indicador de viabilidade, pois mRNA é uma molécula transitória, mRNA convertidos em DNA complementares utilizando da transcriptase reversa para amplificação, também é uma técnica que pode ser utilizada para a quantificação de mRNA, relativa e absoluta, para detectar transcritos em pequenos números de celular e tecidos, e distinguir genes muito parecidos (RODRIGUES, 2017). Existem muitas outras técnicas baseadas em PCR, mas essas são as mais utilizadas para nematoides.

Essas técnicas que utilizam de moléculas para a detecção, principalmente essas que são variações da PCR, possuem as vantagens de poderem ser utilizadas para um formato de alto rendimento, as informações referentes aos genes podem ser arranjadas facilmente nos diversos bancos de dados que contém as informações de sequenciamento, além de serem rápidas, precisas, relativamente baratas, não dependem de variações fenotípicas e da fase de desenvolvimento do parasita (CARNEIRO; LIMA; CORREIA, 2017).

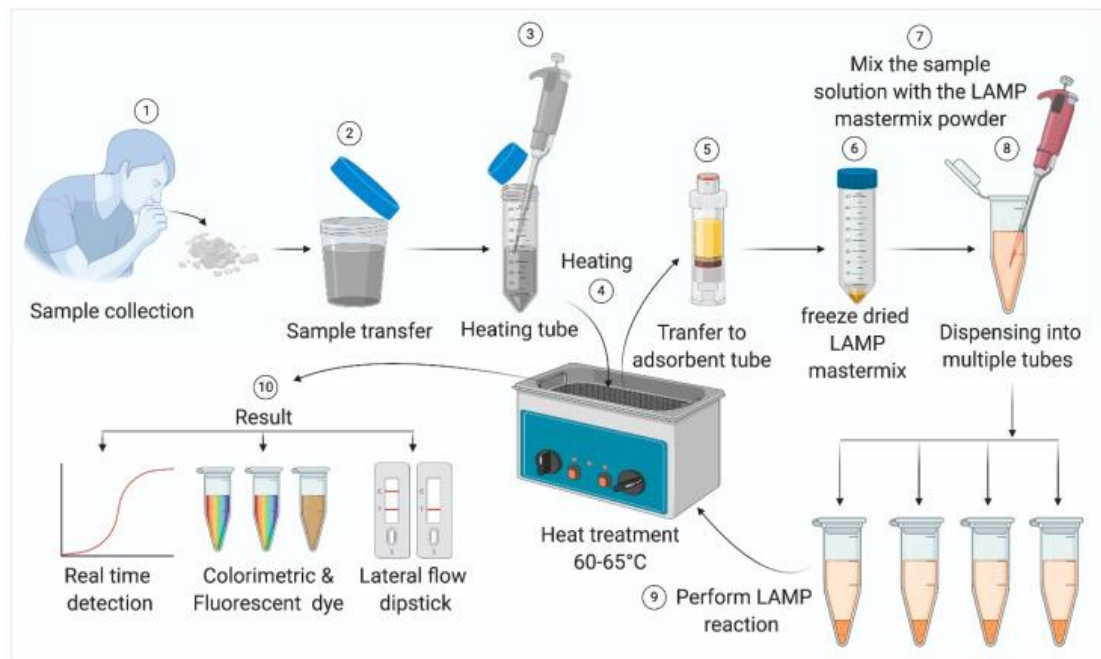
A aplicação das técnicas de PCR é muito ampla, alguma das áreas são: biotecnologia, biossegurança, investigação forense na medicina, detecção micro-organismos ou de organismos geneticamente modificados, diagnóstico de doenças de origem genética ou infecciosas, mapeamento genético ou construção de mapas genéticos, genotipagem, clonagem de genes, entre outros (RUTHS; MACEDO; NASCIMENTO, 2017). Essas aplicações se resumem em identificação molecular, engenharia genética e sequenciamento.

Amplificação isotérmica mediada por loop, tradução do inglês loop-mediated isothermal amplification (LAMP), é outra técnica de amplificação, ela realiza a amplificação do gene alvo, com o auxílio de primers de oligo nucleotídeos assim como a PCR, mas possui algumas diferenças como, a utilização de mais primers, enquanto a PCR usa duas, a LAMP usa de 4 a 6 primers, o que confere mais abrangência em relação ao alvo; outro fator em relação à visualização da amplificação é que pode ser feita sem o uso de instrumentos ultravioleta e pode ser visualizada a olho nu com a adição de corantes próprios; os ensaios podem ser realizados em banho-maria ou unidades pré-aquecidas e também dispensam géis de agarose e escalas de



DNA/RNA, o que as torna um processo mais barato que a PCR (AHUJA; SOMVANSHI, 2021). O esquema dos processos do LAMP pode ser observado na Figura 4

**Figura 4.** Processos da reação loop-mediated isothermal amplification (LAMP). Etapas nas respectivas ordens: coleta de amostra; mistura da solução de amostra com o pó LAMP mastermix; execução da reação LAMP; tratamento térmico; resultado: detecção em tempo real, corante colorimétrico, corante fluorescente, vareta de fluxo lateral.



Fonte: Augustine et al. (2020).

### 3.2.2. TÉCNICAS DE RNAi

A ideia do que seria chamado RNAi surgiu durante o estudo sobre a interdição de antisense RNA, apresentado em *petúnias* transgênicas, um ano depois, em 1998, foi apresentada a primeira descrição, no estudo com RNAi em *Caenorhabditis elegans*, nematoide modelo utilizado para pesquisas, feito por Craig Mello e Andrew Fire, e em 2006 levaram o prêmio Nobel, foram eles que apresentaram o termo RNAi (MITHA, 2021).

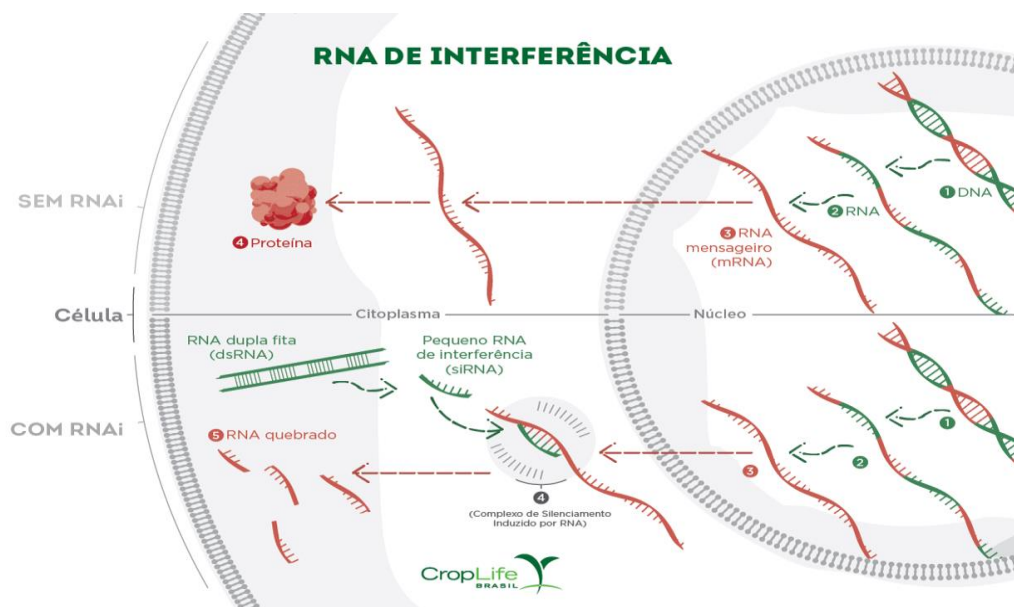
RNA interferência, em inglês RNA interference (RNAi), é um processo biológico, que silencia um gene específico, gerando a inibição da expressão desse gene, esse processo depende da homologia, em que o RNA mensageiro, em inglês messenger RNA (mRNA), alvo específico é direcionado e reconhecido por um RNA homólogo, o que acarreta degradação do RNA homólogo e do mRNA, é um processo complexo, nesse processo ocorre a ligação do RNA homólogo com mRNA que gera um RNA de fita dupla, em inglês Double-Stranded RNA

(dsRNA), híbrido que os degrada, impedindo o de elaborar proteínas, essa via de RNAi é presente na maioria dos eucariotos (KUMAR et al., 2020).

Existem duas formas de entrega do dsRNA sendo exógenas, podendo ser por infecção viral, ou endógena, pelo próprio hospedeiro. A entrega do gene de interferência pelo hospedeiro, técnica de RNAi conhecida como Host-Delivered RNAi (HD-RNAi) e também existe outra baseada em gene entregue pelo hospedeiro a Host Induced Gene (HIGS), essas duas tem apresentado sua vantagem, pois, proporciona de forma contínua o gene de interferência para o nematoide, como o dsRNA ou siRNA, assim aumenta as condições da supressão do gene do nematoide, os genes selecionados para sofrerem a supressão podem ser de classificados de forma geral em: genes de nematoides responsáveis pela manutenção, pelo parasitismo ou genes efetores e genes responsáveis pelo desenvolvimento (BANERJEE et al., 2017).

Na técnica de RNAi inicia com dsRNA exógeno, por exemplo, infecção de vírus, ou endógena, do próprio hospedeiro, esse dsRNA é fragmentado pela enzima Dicer em um curto RNA de interferência, em inglês Small interfering RNA (siRNA), então esses são desenrolados, a fita passageira é excluída e a fita referência é conduzida para a proteína Argonaute, formando o complexo de silenciamento induzido por RNA, em inglês RNA induced silencing complex (RISC), apto para degradar o mRNA, que o impossibilita de produzir proteína (BLYUSS et al., 2019). De forma esquematizada, pode ser observado na Figura 5.

**Figura 5.** Mecanismo de “RNA interference” (RNAi).



Fonte: Croplife (2020).

O sucesso do RNAi entregue pela hospedeira para o controle/resistência do nematoide, vai depender do papel exercido pelo gene alvo, principalmente quando são células de processos fundamentais, e o grau de knockdown, de silenciar, do gene transcrito (JOSHI et al., 2020).

RNAi apareceu como uma técnica para o controle de forma poderosa e eficiente de diversos tipos de pragas e patógenos, como nematoides, é importante, pois existe a necessidade da diminuição de produtos químicos, que afetam de forma drástica o meio ambiente e o ecossistema, algumas das características da técnica RNAi é sua alta precisão, em níveis de expressão genética e espécie alvo; intenso poder, em inibição de expressões genéticas, que desempenham funções fundamentais para o parasita alvo, essa inibição pode levar para o sucesso do controle do parasita indesejado; o nível de interferência, podem ser causadas em células e tecidos longe da região onde foi inserida (BANERJEE et al., 2017).

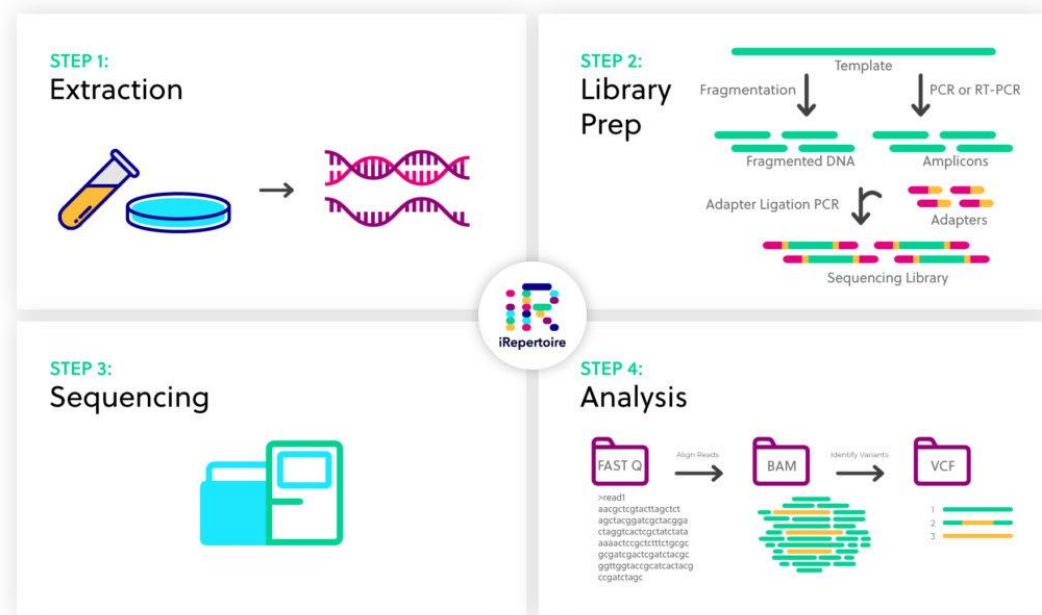
### **3.2.3. SEQUENCIAMENTO DE ÚLTIMA GERAÇÃO (NGS- Next Generation Sequencing)**

O sequenciamento de última geração, conhecida do inglês next generation sequencing (NGS), no qual são conhecidas a partir da segunda geração de técnicas de sequenciamento, é uma tecnologia de sequenciamento de alto rendimento, escalabilidade e velocidade, pois, o sequenciamento é maciçamente paralelo e permite o sequenciamento sem a separação em tubos, vias separadas ou capilares das reações individuais (ALEKSEYEV et al., 2018).

NGS é utilizada para determinar as regiões alvo de RNA ou DNA e indicar a organização dos nucleotídeos em genomas. As etapas do processo do NGS incluem a divisão do RNA/DNA em várias partes, inclusão de adaptadores, sequenciamento das bibliotecas e reconstituição para formar a sequência genômica, de forma esquematizada pode ser observada na Figura 6. A diferença de outras tecnologias é que o NGS faz de maneira maciçamente paralela o sequenciamento de milhões de fragmentos, e de forma veloz, precisa, ao passo que reduz os custos (ILLUMINA INC., 2017).

**Figura 6.** Etapas do next generation sequencing (NGS). Etapa 1: extração de amostra, pode ser realizada em qualquer amostra que produza DNA ou RNA. Etapa 2: preparação da biblioteca, a partir da amostra de RNA ou DNA, ocorre em duas etapas: 1) amplificação; 2) adição de adaptadores de sequenciamento. Etapa 3: sequenciamento, o sequenciamento paralelo é

realizado usando uma plataforma NGS. Etapa 4: Alinhamento e análise de dados.



Fonte: iRepertoire (2022).

O NGS possibilita a utilização para: sequenciar genomas inteiros de forma rápida; regiões alvo do genoma; sequenciamento de RNA, descobrir novas variantes, além de quantificar mRNA, estudo de micro bioma; identificação e descoberta de patógenos; qualificar fatores epigenéticos; entre outras funções para a medicina (KULSKI, 2016).

Geralmente é utilizado para diagnóstico, monitoramento, gerenciamento de doenças infecciosas e muito importante para o estudo de metagenômica, demonstrando seu papel em 2020 na caracterização do genoma do SARS-COV-2, vírus causador da doença do Covid-19, além do seu monitoramento (GKAZI, 2021).

Atualmente existem diversas plataformas NGS disponíveis, todas com suas particularidades, mas seguindo a mesma linha básica que são a preparação da biblioteca e os processos de sequenciamento que ocorrem de forma simultânea com a detecção, alguns exemplos dessas plataformas são a Ion Torrent e Illumina, para os estudos das comunidades de nematoides, tem se observado a utilização da plataforma Roche 454, devido ao comprimento de leitura mais longo que essa plataforma utiliza, torna a mais apropriada para a análise de metabarcoding, que é a técnica que permite a identificação simultânea de várias espécies na mesma amostra (AHMED et al., 2016).

Ao se pegar para analisar e comparar as técnicas NGS e qPCR usadas para detecção de variantes, a NGS leva vantagem principalmente no poder de descoberta, mas também possuem

outros aspectos, apesar de serem sensíveis e confiáveis, os pontos de vantagem da NGS são: consegue detectar sequências não conhecidas; apresenta maior sensibilidade para quantificar transcrições e variantes; consegue sequenciar vários genes em diversas amostras simultaneamente (ILLUMINA, 2019).

Para a área de nematoides parasitas de plantas, a técnica metabarcoding vem sendo utilizada para a análise de amostras grandes de nematoides de valor econômico, e com isso entender melhor a sua distribuição e variedade, com essa técnica é possível realizar a identificação de alto rendimento, e de forma paralela, de várias espécies, além disso, com essa técnica, pode ajudar a entender o DNA total, degradado na extração, de locais onde não houve o isolamento do nematoide (AHMED et al., 2016).

A base do NGS vem do método de sequenciamento Sanger, desenvolvido em 1977 por Fred Sanger e seus colaboradores, esse e outros métodos como PCR e eletroforese capilar em gel correspondem à primeira geração de sequenciamento, a segunda geração foi iniciada pelo meado de 2004 com o método de sequenciamento de última geração, onde os resultados são em alto rendimento, maior velocidade, sensibilidade e menor custo, a principal diferença está no volume do sequenciamento, com imenso número de reações em paralelo (GKAZI, 2021). A segunda geração também apresenta pontos a serem melhorados, mas as principais são o comprimento de leitura curta, que limita, e a necessidade da utilização do PCR para etapas de amplificação, para a preparação da biblioteca e análise, isso pode acarretar diversos erros no processo (KULSKI, 2016). Em meados de 2014, inicia os métodos de terceira geração que esquivam da necessidade do PCR para as etapas, realizando seus sequenciamentos sem as etapas de amplificação, dependendo do método tem a vantagem de comprimentos de leituras muito mais longos, que aumenta a sensibilidade, além de permitir a identificação para estudos epigenéticos (GKAZI, 2021). Hoje existe a quarta geração, que oferta varredura completa do genoma, são tecnologias baseadas em nanoporos de moléculas únicas onde os nanoporos de proteínas passam em uma membrana de polímero no decorrer ocorrem mudanças de correntes específicas conforme cada nucleotídeo passa pelo detector, essa tecnologia está sendo usada para sequenciar metagenômicos e amostras ambientais, são capazes de identificar alterações na base permitindo a identificação de eventos epigenéticos, também possibilita o sequenciamento direto de RNA e sequenciamento de cDNA sem PCR, podem apresentar erros em comparação aos anteriores, mas isso pode ser amenizado pela abundância de moléculas que podem ser sequenciadas (SLATKO; GARDNER; AUSUBEL, 2018).

#### 4. METODOLOGIA

Nosso trabalho constou de uma revisão sistemática da literatura de natureza descritiva com abordagem qualitativa e quantitativa, baseando-se na pesquisa com a combinação dos descritores: “ferramentas moleculares” AND “fitonematoides” AND “controle” AND “monitoramento”; “phytonematodes” AND “molecular tools” AND “surveillance” AND “control”; “nematoides” AND “plantas” AND “controle” AND “ferramenta molecular”; “nematodes” AND “plant” AND “control” AND “molecular tools”. A pesquisa foi feita nas bases de dados indexadas: Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Science Direct, com artigos escritos nas línguas portuguesa e inglesa, e ano de publicação de 2016 a 2021.

Os artigos foram armazenados em disco rígido (Hard Disk), separados em duas pastas, nomeadas: SciELO e SCIENCEDIRECT. Dentro dessas pastas, os artigos encontrados na busca foram distribuídos em subpastas, nomeadas com o nome dos autores e ano de publicação. Para o acesso ao texto completo, foi acessado o link disponível diretamente na própria base de dados selecionada.

A análise dos artigos encontrados foi realizada em três etapas. Inicialmente foram lidos todos os títulos dos artigos encontrados nas bases de dados com os descritores utilizados, selecionados os que apresentaram termos relacionados com os objetivos. Após selecionados os artigos, partimos para a segunda etapa, que se constituiu na leitura dos resumos. Foram selecionados para a terceira etapa os artigos que contemplavam os critérios de inclusão, ou seja, que mencionavam alguma informação quanto a identificação de espécie de fitonematoides, monitoramento e/ou controle com técnicas moleculares. E descartados os que contemplavam os critérios de exclusão que são: nematoides que não são parasitas de plantas e técnicas de identificação, monitoramento e controle que não são moleculares. Por fim, na terceira e última etapa do estudo, foram lidos e avaliados os textos integrais dos artigos selecionados na segunda etapa, de modo a explorar as informações dos estudos e concluir os objetivos desta revisão, sendo essa análise qualitativa, onde se extraiu os principais dados dos artigos escolhidos, que foram: título, país, ano, revista, autores, técnicas moleculares, descrição, finalidade, conclusão do artigo, nematoides e culturas, e foram apresentados em forma de tabela, onde boa parte destas importações podem ser observadas na tabela de estratificação presente no material suplementar deste trabalho.

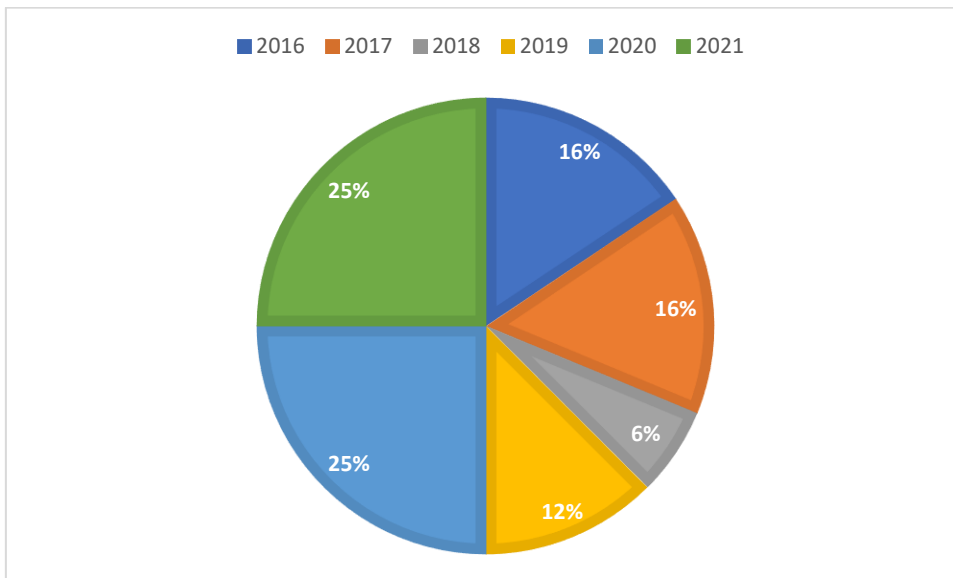
Nas buscas nos bancos de dados SciELO e SCIENCEDIRECT, usando a combinação dos descritores, foram identificadas 3.300 publicações no SCIENTIFIC DIRECT, e 1

publicação no SciELO em que foi descartada. Após a seleção das publicações, foram selecionados 32 artigos após a utilização dos critérios de exclusão estabelecidos para o trabalho.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Sobre um dos aspectos gerais dos artigos, em relação ao número de publicações por ano, dos artigos selecionados, no período de 2016 a 2021, nos últimos 2 anos correspondem a 50% dos 32 artigos como aponta o Gráfico 1, e também pode ser observado na Tabela de estratificação no material suplementar, isto pode demonstrar mais interesse da comunidade científica para a utilização destas ferramentas moleculares para tais finalidades. Pois, com o avanço tecnológico vem o barateamento e a facilidade do acesso a determinadas tecnologias, e a pesquisa comprovando a eficiências para determinadas finalidades, com a economia de tempo (BRAUN-KIEWNICK; KIEWNICK, 2018).

**Gráfico 1.** Porcentagem dos 32 artigos selecionados, por ano.

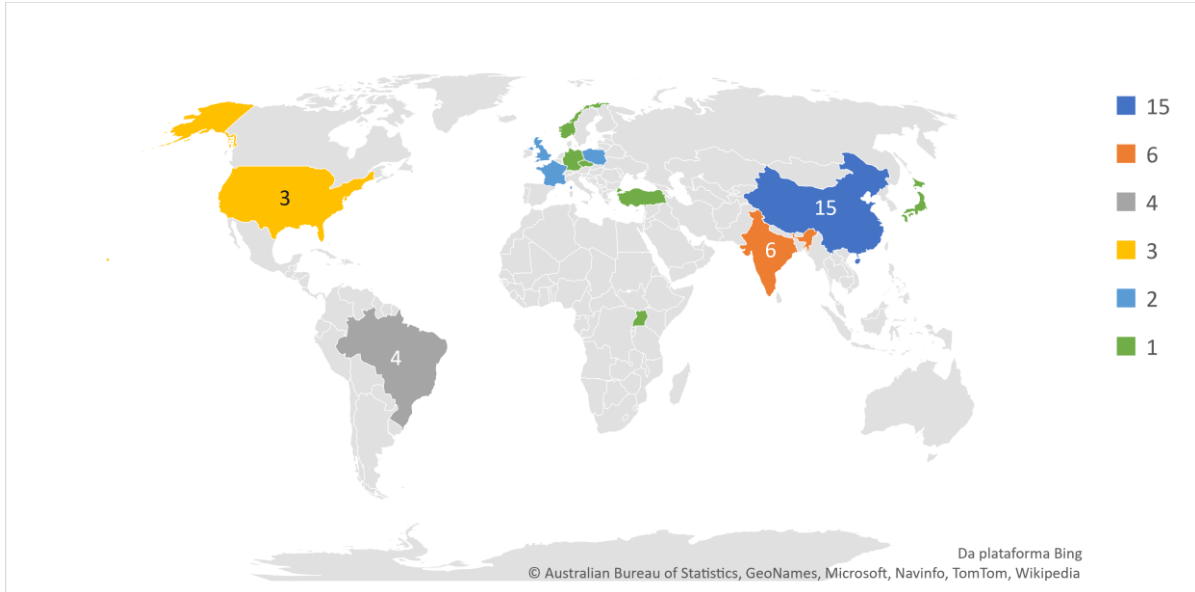


Fonte: Autor (2021).

Seguindo os aspectos gerais dos artigos, quase 50% foram da China correspondendo a 15 artigos, como aponta o Gráfico 2, onde 5 destes são sobre soja, que foi a cultura mais estuda com 9 publicações, como pode ser observado no Gráfico 3. Brasil foi o terceiro maior número de publicações, com 4 artigos, sendo 3 destes sobre soja. Brasil e China são duas potências mundiais na produção de soja, Brasil como o segundo maior produtor e a China como quarto maior produtor de soja no mundo (SOPA, 2020). Isto explica o interesse dos estudos em novas ferramentas para esta cultura. O segundo em número de artigos fica para a Índia, apesar de predominantemente possuir uma agricultura familiar, esse setor emprega 58% da população (INVESTINDIA, 2021).

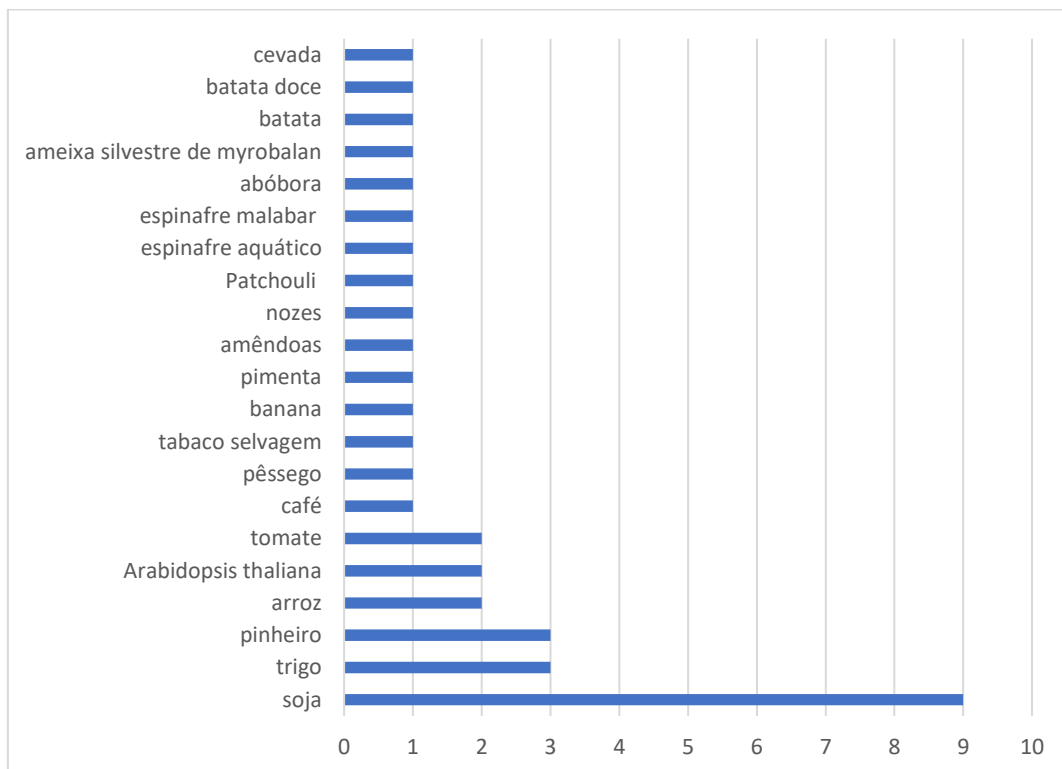
**Gráfico 2.** Países correspondentes dos 32 artigos selecionados.





Fonte: Autor (2021).

**Gráfico 3.** Número de vezes que a cultura foi estudada nos 32 artigos selecionados.



Fonte: Autor (2021).

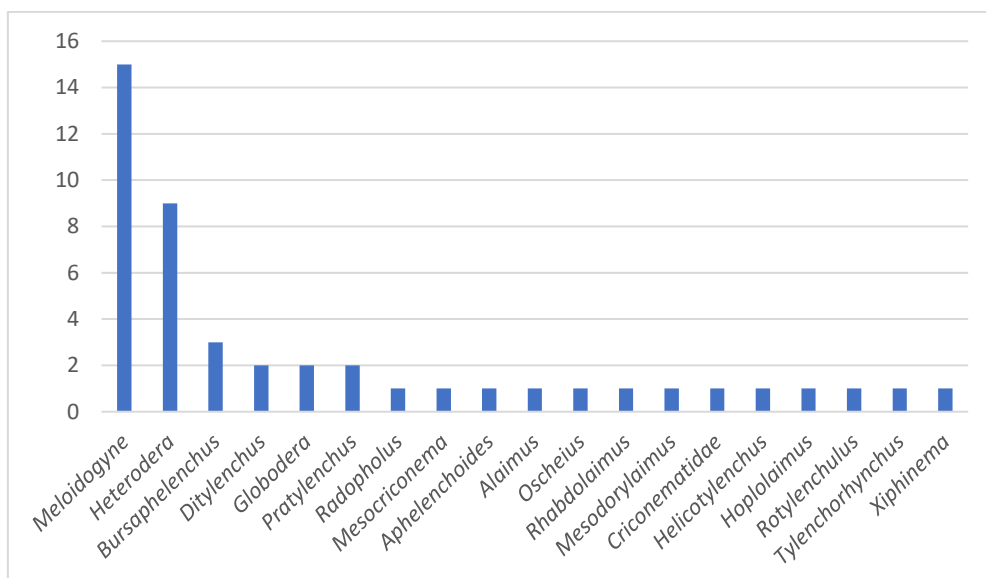
Dos nematoides, os gêneros *Meloidogyne* e *Heterodera* foram os mais estudados, presentes em 15 e 9 artigos dos 32, dados apontados no Gráfico 4, correspondendo a 47% e 28% respectivamente. Esse interesse pelo gênero *Meloidogyne*, conhecido como nematoides-

das-galhas, se dá por estar em primeiro lugar no quesito perdas econômicas, gama de hospedeiros e distribuição geográfica (JOSHI et al., 2020). No gênero *Meloidogyne* destaca-se com 73% das publicações deste gênero dos artigos selecionados, a espécie *Meloidogyne incógnita*, dados na Tabela 1, é a espécie com maior distribuição, provavelmente, a que causa mais danos econômicos entre as regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo (EISENBACK, 2020). Outras espécies deste gênero também se destacam, como a *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne arenaria*, presentes em 5 e 3 das publicações respectivamente, elas também estão entre as principais desse gênero que causam severos danos econômicos em todo mundo (JOSHI et al., 2020).

Nematoídes do gênero *Heterodera* ficam em segundo lugar no número de publicações, segundo o Gráfico 4, conhecido como nematoíde do cisto, também é um gênero economicamente muito importante, dentro deste está *Heterodera glycines Ichinohe*, com 6 das 9 publicações deste gênero, dados na Tabela 1, também chamada nematoíde de cisto da soja, é o nematoíde mais economicamente importante para soja, suas perdas chegam a US\$ 1 bilhão de rendimento anual para os Estados Unidos (GE et al., 2018). *Heterodera avenae* é outra que se destaca, aparecendo em 3 artigos, também conhecida em inglês como: cereal cyst nematode (CCN), é relatado como o mais prejudicial para o trigo e a cevada em diversas partes do mundo, principalmente em locais que ocorrem seca e predomina a monocultura de cereais (KUMARI, 2017).

Podemos destacar também o gênero *Bursaphelenchus*, com a espécie *Bursaphelenchus xylophilus*, presente em 3 artigos, apresentado na Tabela 1, conhecido em inglês como: Pinewood nematode (PWN), ou nematoíde do pinheiro, é um dos patógenos mais destrutivos para o ecossistema florestal mundial, responsável pela epidemia da murcha do pinheiro, doença que gerou enormes perdas econômicas e ecológicas, onde chegou, considerada uma ameaça aos ecossistemas florestais (WANG et al., 2016). Listado em mais de 50 países como objeto de quarentena, o controle é feito por injeção de pesticida no tronco, que pode com o uso acentuado acarretar sérios problemas ao meio ambiente e ao seres humanos (HAO et al., 2021). Esses fatores levam a importância da procura de métodos e ferramentas mais eficientes para o monitoramento e o controle deste nematoíde.

**Gráfico 4.** Número de vezes que o gênero do nematoíde foi estudado nos 32 artigos selecionados.



Fonte: Autor (2021).

**Tabela 1.** Número por espécie nos 3 gêneros de nematoides mais estudados nos artigos selecionados.

Meloidogyne spp. em 15 artigos		
<i>Meloidogyne spp.</i>	Nº	%
<i>Meloidogyne incognita</i>	11	73
<i>Meloidogyne javanica</i>	5	33
<i>Meloidogyne arenaria</i>	3	20
<i>Meloidogyne graminicola</i>	2	13
<i>Meloidogyne ssp.</i>	1	7

<i>Heterodera spp. em 9 artigos</i>		
<i>Heterodera spp.</i>	Nº	%
<i>Heterodera glycines Ichinohe</i>	6	67
<i>Heterodera avenae</i>	3	33
<i>Heterodera filipjevi</i>	1	11
<i>Heterodera latipons</i>	1	11

<i>Bursaphelenchus spp. em 3 artigos</i>		
<i>Bursaphelenchus spp.</i>	Nº	%
<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>	3	100
<i>Bursaphelenchus mucronatus</i>	1	33

Fonte: Autor (2021).

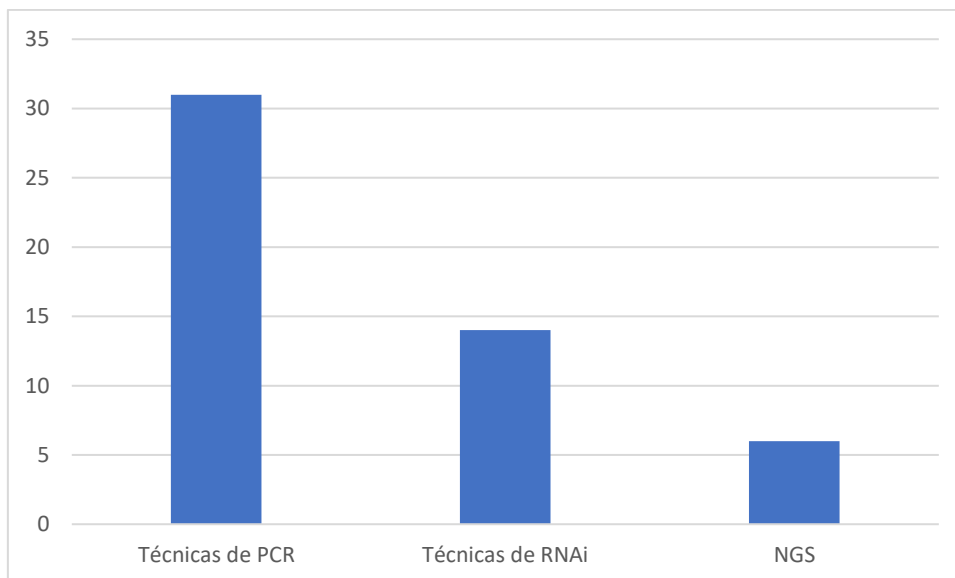
Das técnicas moleculares foram observados três tipos: técnicas de PCR, técnicas de RNAi e NGS. Técnicas de PCR foram presentes em 31 artigos, dados apontados no Gráfico 5, correspondendo a 97% dos artigos selecionados, técnicas de RNAi em 44% e NGS em 19%. Das técnicas de PCR, a qRT-PCR/qPCR fez presente em 72% dos artigos gerais selecionados, enquanto a PCR convencional em 66%, dados presentes na Tabela 2.

A Real-Time Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (qRT-PCR)/Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR), apresenta suas vantagens em relação a métodos de análise de DNA e RNA mais tradicionais, como a PCR convencional, pois: mais fácil para realizar; após a extração do DNA, em poucas horas os resultados estão disponíveis; em uma única corrida de PCR os resultados podem ser observados em tempo real, o que dispensa a pós análise de PCR; pode ser adaptado tranquilamente para análises de alto rendimento de muitas amostras em simultâneo, em relação ao alto rendimento, não é necessário um especialista taxonômico para a identificação de nematoides, até que os resultados sejam obtidos. Esses fatores economizam tempo e custos em relação a esses outros métodos (BRAUN-KIEWNICK; KIEWNICK, 2018). Atualmente são as técnicas mais precisas para análise de expressão genética na quantificação, por isso é uma das mais frequentemente usadas na pesquisa do mecanismo molecular (BORAH et al., 2020).

A “NGS” abreviação de next generation sequencing, presente em 6 artigos ou 19% dos selecionados, como o PCR também é uma tecnologia de detecção de sequenciamento de DNA e RNA, é um método que está ganhando espaço por apresentar vantagem em cima da qRT-PCR/qPCR, seu poder de descoberta é maior, pois, a qRT-PCR/qPCR só pode detectar sequências conhecidas, enquanto NGS tem mais liberdade com novos genes e maior sensibilidade para mensurar transcrições e variantes raras; para quantidade de alvos, com baixos alvos qPCR é eficaz, mas quando são muitos, NGS leva vantagem com muitos alvos ou amostras e para encontrar variantes (ILLUMINA, 2019).

Em técnicas de Ribonucleic Acid interference (RNAi), presentes em 44% dos artigos, são técnicas de inibição de genes específicos, usadas para o controle de nematoides em plantas de cultivo. Seu interesse vem ganhando força por ser possível de ser incluída em uma agricultura mais sustentável, pois, sua forma de controle, os alvos são específicos diminuindo a necessidade de uso de pesticidas (DUTTA et al., 2020). A combinação dessa técnica de RNAi induzida pelo hospedeiro, faz presente usando essa abordagem na host-induced gene silencing (HIGS)/Host-Delivered RNAi (HD-RNAi), apesar de poucos artigos, 3 dos selecionados segundo a Tabela 3, apresentam resultados muito promissores, que garantem a eficácia dessa abordagem contra esses patógenos (TIWARI et al., 2017). Essa abordagem garante a contínua entrega do gene de silenciamento para o patógeno (DUTTA et al., 2020).

**Gráfico 5.** Número de vezes que as técnicas moleculares foram usadas nos 32 artigos selecionados.



Fonte: Autor (2021).

**Tabela 2.** Número de vezes que as técnicas de PCR foram usadas nos 32 artigos selecionados.

Técnicas de PCR	Nº	%
PCR convencional	21	66
Real-Time Quantitative Reverse Transcription PCR (qRT-PCR)/ Real-Time Quantitative PCR (qPCR)	23	72
Real-time PCR–high-resolution melt (PCR-HRM)	1	3
Digital PCR (dPCR)	1	3
PCR Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP)	1	3

Fonte: Autor (2021).

**Tabela 3.** Número de vezes que a técnicas de RNAi foram usadas nos 32 artigos selecionados.

Técnicas de RNAi	Nº	%
RNAi convencional	14	44
Host-Induced Gene Silencing (HIGS)/Host-Delivered RNAi (HD-RNAi)	3	9

Fonte: Autor (2021).

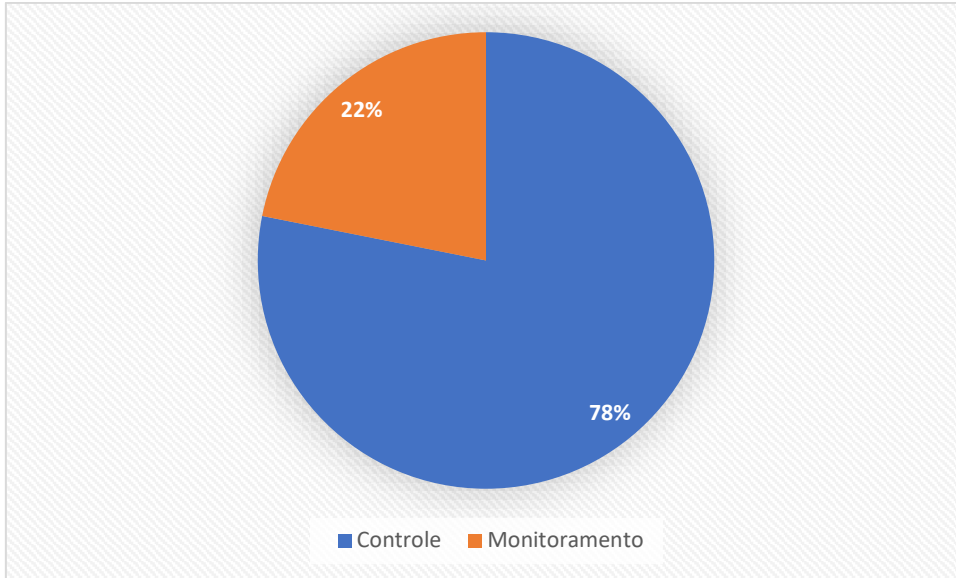
Classificando os artigos quanto a finalidade, foram selecionadas três categorias: identificação, monitoramento e controle. A Identificação fez presente em todos os artigos, pois, através dessas técnicas moleculares de identificação, foi possível o sequenciamento de genes, diferenciar gênero e espécie, até mesmo dos morfologicamente e geneticamente semelhantes, e quantificá-los, exemplo de objetivos presentes no artigo: (FILIPIAK; HASIÓW-JAROSZEWSKA, 2016); identificar e diferenciar genes efetores, responsáveis por alguns processos de metabolismo do nematoide ou da planta, que leva o para o sucesso da infecção, dentro destes objetivos temos como exemplo: (SOMVANSI et al., 2021) e dentre outros dos artigos selecionados, ou a resistência a ela, em: (MARTINS et al., 2020) e dentre outros dos

artigos selecionados. Por conta disto, na classificação quanto a finalidade, os 32 artigos selecionados foram classificados em dois grupos, monitoramento e controle, como mostra no Gráfico 6.

Na finalidade de Monitoramento, foram encontrados 7 artigos correspondendo a 22% do total, como mostra o gráfico 6 que foi feito a partir da Tabela de estratificação, na linha de monitoramento, os objetivos com o uso destas ferramentas foram para identificar, caracterizar e quantificar comunidades específicas de nematoides, objetivos presentes nos artigos: (BELL et al., 2021), (CUI et al., 2017), (HODSON; CICCHETTO; FIERRO, 2021), (KAWANOBE; TOYOTA; RITZ, 2021), (KUMARI, 2017) e (LI et al., 2016); e distinguir nematoides de espécies morfológicamente e geneticamente semelhantes, objetivos presentes no artigo: (FILIPIAK; HASIÓW-JAROSZEWSKA, 2016).

A finalidade Controle apresentou 25 artigos equivalendo a 78% das publicações, como pode ser observada Gráfico 6, foi observado alguns espectros de objetivos que leva ao controle, utilizando-se de ferramentas moleculares no processo, como, para caracterizar genes importantes que garantem o sucesso da infecção do parasita nematoide, com a regulação de um processo de metabolismo importante, como exemplo para estes objetivos podem ser destacados os artigos: (CHI et al., 2016), (MENDES et al., 2021b) e dentre outros dos artigos selecionados, ou gene que leva a resistência/defesa por parte da planta, onde podem ser destacados os artigos: (GE et al., 2018), (XIAO et al., 2020) e dentre outros dos artigos selecionados. Além dessas formas de uso das ferramentas e visando verificar/testar os genes importantes que leva para o controle do nematoide parasita, usando técnicas moleculares de inibidores de genes, técnicas de RNAi, confirmando a importância dos genes e o sucesso destas formas de controle mais eficiente em relação ao alvo e ao que se quer atingir dentro deste ao nível molecular, objetivos que podem ser encontrados nos artigos: (CHI et al., 2016), (DUTTA et al., 2020), (HAO et al., 2021), (JOSHI et al., 2020), (WANG et al., 2016), (ZHANG et al., 2020) e dentre outros dos artigos selecionados. Esses estudos levam para o aprimoramento dessa forma de controle do parasita, podendo ser uma forma de manejo mais eficiente e ecologicamente mais sustentável (MARTINS et al., 2020).

**Gráfico 6.** Número de finalidades presentes nos artigos selecionados.



Fonte: Autor (2021).

## 6. CONCLUSÕES

Dentre os trabalhos avaliados, foram observados nos últimos dois anos do período avaliado, que foram de 2016 a 2021, um aumento no número de publicações com o uso de técnicas moleculares para as áreas de monitoramento e controle de nematoides parasitas de plantas, estes anos, 2020 e 2021, representaram 50% das publicações. 78% dos artigos mencionados no período observado, estavam vinculados a emprego de técnicas moleculares apenas no controle desses parasitas. O maior número de publicações foi desenvolvido na China com 15 artigos, 47% do total selecionado. A soja foi a cultura mais estudada, dos 32 artigos selecionados 9 publicações eram vinculadas a essa cultura. Quanto ao número de publicações, o Brasil ficou em terceiro com quatro no total e todas com foco em controle e identificação, os métodos observados nestes estudos estavam vinculadas as técnicas de amplificação (PCR) e a tecnologia de RNA interferência (RNAi) esteve presente em dois desses trabalhos com a soja. No tocante a utilização destas técnicas moleculares para a identificação, técnicas de amplificação (PCR) e sequenciamento como as técnicas (NGS), estavam presentes em 97% e 19%, respectivamente, dos artigos selecionados. Quanto a técnica molecular usada para o controle, RNA interferência (RNAi) foi observada em 44% dos artigos selecionados, sendo a principal para tal finalidade.



## 7. REFERÊNCIAS

AHMED, Mohammed; SAPP, Melanie; PRIOR, Thomas; KARSSSEN, Gerrit; BACK, Matthew Alan. Technological advancements and their importance for nematode identification. **Soil**, [S. l.], v. 2, n. 2, p. 257–270, 2016. ISSN: 2199398X. DOI: 10.5194/soil-2-257-2016. Disponível em: <https://soil.copernicus.org/articles/2/257/2016/>. Acesso em: 9 dez. 2021.

AHUJA, Amit; SOMVANSI, Vishal Singh. Diagnosis of plant-parasitic nematodes using loop-mediated isothermal amplification (LAMP): A review. **Crop Protection**, [S. l.], v. 147, p. 105459, 2021. ISSN: 02612194. DOI: 10.1016/j.cropro.2020.105459. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105459>. Acesso em: 10 nov. 2021.

ALEKSEYEV, Yuriy O.; FAZELI, Roghayeh; YANG, Shi; BASRAN, Raveen; MAHER, Thomas; MILLER, Nancy S.; REMICK, Daniel. A next-generation sequencing primer—how does it work and what can it do? **Academic Pathology**, [S. l.], v. 5, p. 1–11, 2018. ISSN: 23742895. DOI: 10.1177/2374289518766521. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/2374289518766521>. Acesso em: 9 dez. 2021.

AMORIM, Lilian; REZENDE, Jorge alberto marques; BERGAMIN FILHO, Armando. **Manual de fitopatologia. Princípios e conceitos**. 5. ed., São Paulo: Agronômica Ceres Ltda,[s.d.].

AUGUSTINE, Robin; HASAN, Anwarul; DAS, Suvarthi; AHMED, Rashid; MORI, Yasuyoshi; NOTOMI, Tsugunori; KEVADIYA, Bhavesh D.; THAKOR, Avnesh S. Loop-mediated isothermal amplification (Lamp): A rapid, sensitive, specific, and cost-effective point-of-care test for coronaviruses in the context of covid-19 pandemic. **Biology**, [S. l.], v. 9, n. 8, p. 1–17, 2020. ISSN: 20797737. DOI: 10.3390/biology9080182.

BANERJEE, Sagar; BANERJEE, Anamika; GILL, Sarvajeet S.; GUPTA, Omp; DAHUJA, Anil; JAIN, Pradeep K.; SIROHI, Anil. RNA interference: A novel source of resistance to combat plant parasitic nematodes. **Frontiers in Plant Science**, [S. l.], v. 8, n. May, p. 1–8, 2017. ISSN: 1664462X. DOI: 10.3389/fpls.2017.00834. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00834>. Acesso em: 9 dez. 2021.

BELL, Christopher A.; NAMAGANDA, Josephine; URWIN, Peter E.; ATKINSON, Howard J. Next-generation sequencing of the soil nematode community enables the sustainability of banana plantations to be monitored. **Applied Soil Ecology**, [S. l.], v. 166, n. October 2020, p. 103999, 2021. ISSN: 09291393. DOI: 10.1016/j.apsoil.2021.103999. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.103999>. Acesso em: 11 dez. 2021.

BERNARD, Gregory C.; EGNIN, Marceline; BONSI, Conrad. **The Impact of Plant-Parasitic Nematodes on Agriculture and Methods of Control**. [s.l.: s.n.]. DOI: 10.5772/intechopen.68958.

BERNARD, Gregory C.; EGNIN, Marceline; BONSI, Conrad. The Impact of Plant-Parasitic Nematodes on Agriculture and Methods of Control. **Nematology - Concepts, Diagnosis and Control**, [S. l.], n. August, 2017 b. DOI: 10.5772/intechopen.68958. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/55521>. Acesso em: 5 dez. 2021.

BLYUSS, Konstantin B.; FATEHI, Farzad; TSYGANKOVA, Victoria A.; BILIAVSKA, Liudmyla O.; IUTYNSKA, Galyna O.; YEMETS, Alla I.; BLUME, Yaroslav B. RNAi-based biocontrol of wheat nematodes using natural poly-component biostimulants. **Frontiers in Plant Science**, [S. l.], v. 10, n. April, 2019. ISSN: 1664462X. DOI: 10.3389/fpls.2019.00483. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00483>. Acesso em: 4 dez. 2021.

BONJOUR, Paulo. **PCR \_ como funciona o método\_ \_ Blog da Engenharia**. 2021. Disponível em: <https://blogdaengenharia.com/secoes/colunistas-blog-da-engenharia/pcr-como-funciona-o-metodo/>. Acesso em: 7 jan. 2021.

BORAH, Bitupon; HUSSAIN, Marine; WANN, Sawlang Borsingh; BHAU, Brijmohan Singh. Selection and validation of suitable reference genes for quantitative real time PCR analysis of gene expression studies in patchouli under *Meloidogyne incognita* attack and PGPR treatment. **Gene Reports**, [S. l.], v. 19, n. September 2019, p. 100625, 2020. ISSN: 24520144. DOI: 10.1016/j.genrep.2020.100625. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100625>. Acesso em: 12 dez. 2021.

BRAUN-KIEWNICK, Andrea; KIEWNICK, Sebastian. Real-time PCR, a great tool for fast identification, sensitive detection and quantification of important plant-parasitic nematodes. **European Journal of Plant Pathology**, [S. l.], v. 152, n. 2, p. 271–283, 2018. ISSN: 15738469. DOI: 10.1007/s10658-018-1487-7. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10658-018-1487-7>. Acesso em: 9 dez. 2021.

CAO, Ke; LI, Haiyan; WANG, Qi; ZHAO, Pei; ZHU, Gengrui; FANG, Weichao; CHEN, Changwen; WANG, Xinwei; WANG, Lirong. Comparative transcriptome analysis of genes involved in the response of resistant and susceptible peach cultivars to nematode infection. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 215, p. 20–27, 2017. ISSN: 03044238. DOI:

10.1016/j.scienta.2016.11.054. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2016.11.054>. Acesso em: 4 nov. 2021.

CARNEIRO, Regina Maria Dechechi Gomes; LIMA, Fábila Silva de Oliveira; CORREIA, Valdir Ribeiro. Methods and Tools Currently Used for the Identification of Plant Parasitic Nematodes. **Intech**, [S. l.], 2017. DOI: 10.5772/intechopen.69403. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/55761>. Acesso em: 4 nov. 2021.

CHI, Yuankai; WANG, Xuan; LE, Xiuhu; JU, Yuliang; GUAN, Tinglong; LI, Hongmei. Exposure to double-stranded RNA mediated by tobacco rattle virus leads to transcription up-regulation of effector gene Mi-vap-from *Meloidogyne incognita* and promotion of pathogenicity in progeny. **International Journal for Parasitology**, [S. l.], v. 46, n. 2, p. 105–113, 2016. ISSN: 18790135. DOI: 10.1016/j.ijpara.2015.09.006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.09.006>. Acesso em: 5 nov. 2021.

CHIN, Sabrina; BEHM, Carolyn A.; MATHESIUS, Ulrike. Functions of flavonoids in plant–Nematode interactions. **Plants**, [S. l.], v. 7, n. 4, p. 1–17, 2018. ISSN: 22237747. DOI: 10.3390/plants7040085. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/7/4/85>. Acesso em: 4 nov. 2021.

CROPLIFE. **RNA de interferência, tecnologia em benefício da saúde de plantas e animais**. 2020. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/conceitos/rna-de-interferencia/>. Acesso em: 8 jan. 2022.

CUI, Jiang kuan; PENG, Huan; LIU, Shi ming; GUL, Erginbas Orakci; HUANG, Wen kun; IMREN, Mustafa; DABABAT, Abdelfattah Amer; PENG, De liang. Occurrence, identification and phylogenetic analyses of cereal cyst nematodes (*Heterodera* spp.) in Turkey. **Journal of Integrative Agriculture**, [S. l.], v. 16, n. 8, p. 1767–1776, 2017. ISSN: 20953119. DOI: 10.1016/S2095-3119(16)61557-5. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61557-5](http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61557-5). Acesso em: 3 nov. 2021.

CUNHA, Tiago Garcia Da; VISÔTTO, Liliâne Evangelista; LOPES, Everaldo Antônio; OLIVEIRA, Cláudio Marcelo Gonçalves; GOD, Pedro Ivo Vieira Good. Diagnostic methods for identification of root-knot nematodes species from Brazil. **Ciência Rural**, [S. l.], v. 48, n. 2, p. 1–11, 2018. ISSN: 1678-4596. DOI: 10.1590/0103-8478cr20170449. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170449>. Acesso em: 8 nov. 2021.

DUTTA, Tushar K.; PAPOLU, Pradeep K.; SINGH, Divya; SREEVATHSA, Rohini; RAO,

Uma. Expression interference of a number of *Heterodera avenae* conserved genes perturbs nematode parasitic success in *Triticum aestivum*. **Plant Science**, [S. l.], v. 301, n. September, p. 110670, 2020. ISSN: 18732259. DOI: 10.1016/j.plantsci.2020.110670. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110670>. Acesso em: 4 nov. 2021.

EISENBACK, J. D. **Meloidogyne incognita (root-knot nematode). Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CABI. 2020.** DOI: 10.1079/ISC.33245.20210200734. Disponível em: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/33245>. Acesso em: 6 nov. 2021.

FANG, Jinggui; ZHU, Xudong; WANG, Chen; SHANGGUAN, Lingfei. Applications of DNA Technologies in Agriculture. **Current Genomics**, [S. l.], v. 17, n. 4, p. 379–386, 2016. ISSN: 13892029. DOI: 10.2174/1389202917666160331203224. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/article/74686>. Acesso em: 7 nov. 2021.

FERRAZ, Luiz Carlos C. Barbosa; BROWN, Derek John Finley. **NEMATOLOGIA DE PLANTAS: fundamentos e importância.** Manaus: NORMA EDIT, 2016. v. 2 ISBN: 978-85-99031-26-1.

FILIPIAK, Anna; HASIÓW-JAROSZEWSKA, Beata. The use of real-time polymerase chain reaction with high resolution melting (real-time PCR-HRM) analysis for the detection and discrimination of nematodes *Bursaphelenchus xylophilus* and *Bursaphelenchus mucronatus*. **Molecular and Cellular Probes**, [S. l.], v. 30, n. 2, p. 113–117, 2016. ISSN: 10961194. DOI: 10.1016/j.mcp.2016.02.003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcp.2016.02.003>. Acesso em: 6 nov. 2021.

GE, Feng yong; ZHENG, Na; ZHANG, Liu ping; HUANG, Wen kun; PENG, De liang; LIU, Shi ming. Chemical mutagenesis and soybean mutants potential for identification of novel genes conferring resistance to soybean cyst nematode. **Journal of Integrative Agriculture**, [S. l.], v. 17, n. 12, p. 2734–2744, 2018. ISSN: 20953119. DOI: 10.1016/S2095-3119(18)62105-7. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)62105-7](http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62105-7). Acesso em: 4 nov. 2021.

GKAZI, Athina. An Overview of Next-Generation Sequencing. **Technology Networks**, [S. l.], 2021. Disponível em: <https://www.technologynetworks.com/genomics/articles/an-overview-of-next-generation-sequencing-346532>. Acesso em: 14 out. 2021.

GOULART, Alexandre Moura Cintra. Análise Nematológica: importância e princípios gerais. **Embrapa Cerrados**, [S. l.], v. 299, 2010. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/77799/1/doc-299.pdf>. Acesso em: 20

out. 2021.

GUO, Xiao; YANG, Xiao hui; YANG, Yu; MAO, Zhen chuan; LIU, Feng; MA, Wei qing; XIE, Bing yan; LI, Guang cun. Bacterial artificial chromosome library construction of root-knot nematode resistant pepper genotype HDA149 and identification of clones linked to Me3 resistant locus. **Journal of Integrative Agriculture**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 57–64, 2017. ISSN: 20953119. DOI: 10.1016/S2095-3119(16)61446-6. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61446-6](http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61446-6). Acesso em: 20 out. 2021.

HAO, Xin; WANG, Bowen; CHEN, Jie; WANG, Buyong; XU, Jiayao; PAN, Jialiang; MA, Ling. Molecular characterization and functional analysis of multidrug resistance-associated genes of Pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*) for nematicides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, [S. l.], v. 177, n. June, p. 104902, 2021. ISSN: 10959939. DOI: 10.1016/j.pestbp.2021.104902. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104902>. Acesso em: 9 out. 2021.

HODSON, Amanda Kaye; CICHETTO, Andrew; FIERRO, Fernando Antonio. Real time PCR assays to detect and quantify the nematodes *Pratylenchus vulnus* and *Mesocriconema xenoplax*. **Crop Protection**, [S. l.], v. 145, n. March, p. 105617, 2021. ISSN: 02612194. DOI: 10.1016/j.cropro.2021.105617. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105617>. Acesso em: 9 out. 2021.

HU, Yanfeng; YOU, Jia; LI, Chunjie; PAN, Fengjuan; WANG, Congli. The Heterodera glycines effector Hg16B09 is required for nematode parasitism and suppresses plant defense response. **Plant Science**, [S. l.], v. 289, n. June, p. 110271, 2019. ISSN: 18732259. DOI: 10.1016/j.plantsci.2019.110271. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110271>. Acesso em: 20 out. 2021.

ILLUMINA. **Targeted next-generation sequencing versus qPCR and Sanger sequencing**. 2019. ISBN: 7702019018. Disponível em: <https://emea.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/other/infographic-targeted-ngs-vs-sanger-qpcr.pdf>. Acesso em: 7 dez. 2021.

ILLUMINA INC. Illumina sequencing introduction. **Illumina sequencing introduction**, [S. l.], n. October, p. 1–8, 2017. ISSN: 1476-4687. ISBN: 0092-8674. Disponível em: [https://www.illumina.com/documents/products/illumina\\_sequencing\\_introduction.pdf](https://www.illumina.com/documents/products/illumina_sequencing_introduction.pdf). Acesso em: 20 out. 2021.

INVESTINDIA. **Agricultura e Indústria Florestal na Índia - Invest India**. [s.d.]. Disponível em: <https://www.investindia.gov.in/pt-br/sector/agriculture-forestry>. Acesso em: 2 dez. 2021.

JIANG, Haipeng; TIAN, Lizheng; BU, Fanshan; SUN, Qiuxia; ZHAO, Xue; HAN, Yingpeng. RNA-seq-based identification of potential resistance genes against the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) HG Type 1.2.3.5.7 in ‘Dongnong L-10’. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, [S. l.], v. 114, n. October 2020, p. 101627, 2021. ISSN: 10961178. DOI: 10.1016/j.pmpp.2021.101627. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101627>. Acesso em: 19 out. 2021.

JOSHI, Ila; KUMAR, Anil; KOHLI, Deshika; SINGH, Ashish K.; SIROHI, Anil; SUBRAMANIAM, K.; CHAUDHURY, Ashok; JAIN, Pradeep K. Conferring root-knot nematode resistance via host-delivered RNAi-mediated silencing of four Mi-msp genes in *Arabidopsis*. **Plant Science**, [S. l.], v. 298, n. February, p. 110592, 2020. ISSN: 18732259. DOI: 10.1016/j.plantsci.2020.110592. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110592>. Acesso em: 20 out. 2021.

KADAM, Suhas et al. Genomic-assisted phylogenetic analysis and marker development for next generation soybean cyst nematode resistance breeding. **Plant Science**, [S. l.], v. 242, p. 342–350, 2015. ISSN: 18732259. DOI: 10.1016/j.plantsci.2015.08.015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.08.015>. Acesso em: 20 out. 2021.

KAWANOBE, Masanori; TOYOTA, Koki; RITZ, Karl. Development and application of a DNA metabarcoding method for comprehensive analysis of soil nematode communities. **Applied Soil Ecology**, [S. l.], v. 166, n. October 2020, p. 103974, 2021. ISSN: 09291393. DOI: 10.1016/j.apsoil.2021.103974. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.103974>. Acesso em: 7 out. 2021.

KOTER, Marek D.; ŚWIĘCICKA, Magdalena; MATUSZKIEWICZ, Mateusz; PACAK, Andrzej; DEREBECKA, Natalia; FILIPECKI, Marcin. The miRNAome dynamics during developmental and metabolic reprogramming of tomato root infected with potato cyst nematode. **Plant Science**, [S. l.], v. 268, n. July 2017, p. 18–29, 2018. ISSN: 18732259. DOI: 10.1016/j.plantsci.2017.12.003. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.12.003>. Acesso em: 20 out. 2021.

KULSHRESTHA, Kinjal; PARIHAR, Akarsh; PARIHAR, Pratibha. Next generation sequencing based transcriptome analysis for nematode resistance in different species of tomato.

**Plant Gene**, [S. l.], v. 24, n. July, p. 100255, 2020. ISSN: 23524073. DOI: 10.1016/j.plgene.2020.100255. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2020.100255>. Acesso em: 20 out. 2021.

KULSKI, Jerzy K. Next-Generation Sequencing — An Overview of the History, Tools, and “Omic” Applications \_ IntechOpen. *In: Next Generation Sequencing - Advances, Applications and Challenges*. [s.l: s.n.]. DOI: 10.5772/61964.

KUMAR, Jitesh; JAIN, Khushbu; KUMARI, Priyanka; MOHANTY, Auroshikha; RAJANI, Kumari; KUMAR, Ravi Ranjan; RANJAN, Tushar. RNA Interference: An Overview. *In: Genetic Transformation in Crops*. [s.l.] : 2020, 2020. ISBN: 978-1-83962-451-3. DOI: 10.5772/intechopen.92681.

KUMAR, Vinod; KHAN, Matiyar Rahaman; WALIA, R. K. Crop Loss Estimations due to Plant-Parasitic Nematodes in Major Crops in India. **National Academy Science Letters**, [S. l.], v. 43, n. 5, p. 409–412, 2020. ISSN: 22501754. DOI: 10.1007/s40009-020-00895-2. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40009-020-00895-2>. Acesso em: 20 out. 2021.

KUMARI, Chanchal; DUTTA, Tushar K.; CHAUDHARY, Sonam; BANAKAR, Prakash; PAPOLU, Pradeep K.; RAO, Uma. Molecular characterization of FMRFamide-like peptides in *Meloidogyne graminicola* and analysis of their knockdown effect on nematode infectivity. **Gene**, [S. l.], v. 619, p. 50–60, 2017. ISSN: 18790038. DOI: 10.1016/j.gene.2017.03.042. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2017.03.042>. Acesso em: 23 out. 2021.

KUMARI, Shesh. Morphological and molecular characterizations of cereal cyst nematode *Heterodera avenae* Wollenweber, 1924 from the Czech Republic. **Journal of Integrative Agriculture**, [S. l.], v. 16, n. 3, p. 532–539, 2017. ISSN: 20953119. DOI: 10.1016/S2095-3119(16)61485-5. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61485-5](http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61485-5). Acesso em: 20 out. 2021.

LI, Yu; WANG, Ke; XIE, Hui; XU, Chun ling; WANG, Dong wei; LI, Jing; HUANG, Xin; PENG, Xiao fang. Parasitism and pathogenicity of *Radopholus similis* to *Ipomoea aquatica*, *Basella rubra* and *Cucurbita moschata* and genetic diversity of different populations. **Journal of Integrative Agriculture**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 120–134, 2016. ISSN: 20953119. DOI: 10.1016/S2095-3119(14)61003-0. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)61003-0](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)61003-0). Acesso em: 20 out. 2021.

MACHADO, Andressa C. Z. **Ataques de nematoides custam R\$ 35 bilhões ao agronegócio**

**brasileiro - Revista Agrícola**. 2015. Disponível em: <http://www.ragricola.com.br/ataques-de-nematoides-custam-r-35-bilhoes-ao-agronegocio-brasileiro/>. Acesso em: 22 out. 2021.

MARCELINO, Liliana Aguilar; GIVES, Pedro Mendoza De; AL ANI, Laith Khalil Tawfeeq; ARELLANO, María Eugenia López; RODRÍGUEZ, Olga Gómez; LUNA, Edgar Villar; GUERRERO, David Emmanuel Reyes. Using molecular techniques applied to beneficial microorganisms as biotechnological tools for controlling agricultural plant pathogens and pest. *In: Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture*. [s.l: s.n.]. p. 333–349. ISBN: 9780128184691. DOI: 10.1016/b978-0-12-818469-1.00027-4.

MARTINS, Andressa C. Q.; MEHTA, Angela; MURAD, André M.; MOTA, Ana P. Z.; SARAIVA, Mário A. P.; ARAÚJO, Ana C. G.; MILLER, Robert N. G.; BRASILEIRO, Ana C. M.; GUIMARÃES, Patrícia M. Proteomics unravels new candidate genes for Meloidogyne resistance in wild *Arachis*. **Journal of Proteomics**, [S. l.], v. 217, n. January, p. 103690, 2020. ISSN: 18767737. DOI: 10.1016/j.jprot.2020.103690. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103690>. Acesso em: 20 out. 2021.

MENDES, Reneida Aparecida Godinho et al. Minc00344 and Mj-NULG1a effectors interact with GmHub10 protein to promote the soybean parasitism by *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. **Experimental Parasitology**, [S. l.], v. 229, n. July 2020, 2021 a. ISSN: 10902449. DOI: 10.1016/j.exppara.2021.108153. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2021.108153>. Acesso em: 22 out. 2021.

MENDES, Reneida Godinho Aparecida et al. The Mi-EFF1/Minc17998 effector interacts with the soybean GmHub6 protein to promote host plant parasitism by *Meloidogyne incognita*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, [S. l.], v. 114, n. February, p. 1–11, 2021 b. ISSN: 10961178. DOI: 10.1016/j.pmpp.2021.101630. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101630>. Acesso em: 24 out. 2021.

MHATRE, Priyank Hanuman; DIVYA, K. L.; VENKATASALAM, E. P.; BAIRWA, Aarti; SUDHA, R.; SARANYA, C.; GURU-PIRASANNA-PANDI, Govindharaj; SHARMA, Sanjeev. Evaluation of trap crop, *Solanum sisymbriifolium* and antagonistic crops against potato cyst nematodes, *Globodera* spp. **South African Journal of Botany**, [S. l.], v. 138, n. 8, p. 242–248, 2021. ISSN: 02546299. DOI: 10.1016/j.sajb.2021.01.001. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.01.001>. Acesso em: 24 out. 2021.

MITHA, Farhan. **The Coming of Age Story of RNA Interference Technology**. 2021.



Disponível em: <https://www.labiotech.eu/in-depth/rnai-new-developments/>. Acesso em: 11 jan. 2022.

PERINA, Fabiano José; COUTINHO, Wirton Macedo; SUASSUNA, Nelson Dias; CHITARRA, Luiz Gonzaga; BOGIANI, Julio Cesar; LAMAS, Fernando Mendes; CARNEIRO, Regina Maria Dechechi Gomes. Manejo de fitonematoides na cultura do algodoeiro. **Embrapa Algodão - Comunicado Técnico**, [S. l.], v. 376, p. 1–10, 2015. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1041566>. Acesso em: 24 out. 2021.

RODRIGUES, Marjory Xavie. DIAGNÓSTICO MOLECULAR VIA PCR E A INOVAÇÃO TECNOLÓGICA NA AGROINDÚSTRIA. *In: Gestão da inovação agroindustrial: diagnóstico molecular*. [s.l.: s.n.]. p. 154. ISSN: 1098-6596. ISBN: 978-85-7014-200-9.

RUTHS, Jullie Angel; MACEDO, Luciano Medina; NASCIMENTO, Mariana Machado Fidelis Do. REAÇÃO DE POLIMERASE (PCR) EM CADEIA. *In: Gestão da inovação agroindustrial : diagnóstico molecular*. Curitiba: EDUTFPR, 2017. p. 154. ISSN: 1098-6596. ISBN: 978-85-7014-200-9.

SEESAO, Y.; GAY, M.; MERLIN, S.; VISCOGLIOSI, E.; ALIOUAT-DENIS, C. M.; AUDEBERT, C. A review of methods for nematode identification. **Journal of Microbiological Methods**, [S. l.], v. 138, p. 37–49, 2017. ISSN: 18728359. DOI: 10.1016/j.mimet.2016.05.030. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.05.030>. Acesso em: 24 out. 2021.

SLATKO, B. E.; GARDNER, A. F.; AUSUBEL, F. M. Overview of next generation sequencing technologies (and bioinformatics) in cancer. **Molecular Biology**, [S. l.], v. 122, n. 1, p. 1–15, 2018. DOI: 10.1002/cpmb.59.Overview.

SOMVANSHI, Vishal Singh; DASH, Manoranjan; BHAT, Chaitra G.; BUDHWAR, Roli; GODWIN, Jeffrey; SHUKLA, Rohit N.; PATRIGNANI, Andrea; SCHLAPBACH, Ralph; RAO, Uma. An improved draft genome assembly of *Meloidogyne graminicola* IARI strain using long-read sequencing. **Gene**, [S. l.], v. 793, n. March, p. 145748, 2021. ISSN: 18790038. DOI: 10.1016/j.gene.2021.145748. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2021.145748>. Acesso em: 5 nov. 2021.

SOPA. **World Soybean Production**. 2020. Disponível em: <http://www.sopa.org/statistics/world-soybean-production/%0Ahttps://www.soymeal.org/soy-meal-articles/world-soybean-production/>. Acesso em: 2 dez. 2021.

SOUZA, Gilza Barcelos De; MENDES, Tiago Antônio de Oliveira; FONTES, Patrícia Pereira; BARROS, Vanessa de Almeida; GONÇALVES, Amanda Bonoto; FERREIRA, Thiago de Freitas; COSTA, Maximiller Dal Bianco Lamas; ALVES, Murilo Siqueira; FIETTO, Luciano Gomes. Genome-wide identification and expression analysis of dormancy-associated gene 1/auxin repressed protein (DRM1/ARP) gene family in *Glycine max*. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, [S. l.], v. 146, p. 134–141, 2019. ISSN: 00796107. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2019.03.006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2019.03.006>. Acesso em: 8 nov. 2021.

SYNGENTA. **Nematoides podem causar grandes perdas à lavoura** \_ Portal Syngenta. 2021. Disponível em: <https://www.portalsyngenta.com.br/noticias/nematoides-podem-causar-grandes-perdas-a-lavoura>. Acesso em: 7 jan. 2022.

TEJO, Débora Perdigão; FERNANDES, Carlos Henrique Dos Santos; BURATTO, Juliana Sawada. Fitonematoides e Estratégias Adotadas em seu Controle. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, [S. l.], v. 24, n. 2, p. 126–130, 2020. ISSN: 1415-6938. DOI: 10.17921/1415-6938.2020v24n2p126-130. Disponível em: <https://seer.pgskroton.com/index.php/ensaioeciencia/article/view/8668>. Acesso em: 20 nov. 2021.

TIAN, Yu; LIU, Bo; SHI, Xuehui; REIF, Jochen C.; GUAN, Rongxia; LI, Ying hui; QIU, Li juan. Deep genotyping of the gene GmSNAP facilitates pyramiding resistance to cyst nematode in soybean. **Crop Journal**, [S. l.], v. 7, n. 5, p. 677–684, 2019. ISSN: 22145141. DOI: 10.1016/j.cj.2019.04.003. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cj.2019.04.003>. Acesso em: 16 nov. 2021.

TIWARI, Ila Mukul; JESURAJ, Arun; KAMBOJ, Richa; DEVANNA, B. N.; BOTELLA, Jose R.; SHARMA, T. R. Host Delivered RNAi, an efficient approach to increase rice resistance to sheath blight pathogen (*Rhizoctonia solani*). **Scientific Reports**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 1–14, 2017. ISSN: 20452322. DOI: 10.1038/s41598-017-07749-w. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-07749-w>. Acesso em: 8 nov. 2021.

WANG, Meng; WANG, Diandong; ZHANG, Xi; WANG, Xu; LIU, Wencui; HOU, Xiaomeng; HUANG, Xiaoyin; XIE, Bingyan; CHENG, Xinyue. Double-stranded RNA-mediated interference of dumpy genes in *Bursaphelenchus xylophilus* by feeding on filamentous fungal transformants. **International Journal for Parasitology**, [S. l.], v. 46, n. 5–6, p. 351–360, 2016. ISSN: 18790135. DOI: 10.1016/j.ijpara.2016.01.008. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2016.01.008>. Acesso em: 10 nov. 2021.

WANG, Ning; PENG, Huan; LIU, Shi ming; HUANG, Wen kun; HOLGADO, Ricardo; LIU-CLARKE, Jihong; PENG, De liang. Molecular characterization and functional analysis of two new lysozyme genes from soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). **Journal of Integrative Agriculture**, [S. l.], v. 18, n. 12, p. 2806–2813, 2019. ISSN: 20953119. DOI: 10.1016/S2095-3119(19)62766-8. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62766-8](http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62766-8). Acesso em: 3 nov. 2021.

XIAO, Kun; ZHU, Haifeng; ZHU, Xiang; HU, Kui; HU, Jianfang. Analysis of the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) resistance and Ma gene cloning in Xinjiang wild (*Prunus sogdiana*) myrobalan plums. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 259, n. March 2019, p. 108772, 2020. ISSN: 03044238. DOI: 10.1016/j.scienta.2019.108772. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108772>. Acesso em: 4 nov. 2021.

YE, Shan; ZENG, Rune; ZHOU, Jianyu; AN, Mingwei; DING, Zhong. Molecular characterization of *Ditylenchus destructor* voltage-gated calcium channel  $\alpha 1$  subunits and analysis of the effect of their knockdown on nematode activity. **Biochimie**, [S. l.], v. 171–172, p. 91–102, 2020. ISSN: 61831638. DOI: 10.1016/j.biochi.2020.02.010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.02.010>. Acesso em: 7 nov. 2021.

ZHANG, Xin et al. Nematode-Encoded RALF Peptide Mimics Facilitate Parasitism of Plants through the FERONIA Receptor Kinase. **Molecular Plant**, [S. l.], v. 13, n. 10, p. 1434–1454, 2020. ISSN: 17529867. DOI: 10.1016/j.molp.2020.08.014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.08.014>. Acesso em: 5 nov. 2021.

## 8. MATERIAL SUPPLEMENTAR

**Tabela de Estratificação.** Estratificação dos artigos selecionados que fizeram uso de ferramentas moleculares para o controle, monitoramento ou identificação de nematoides parasitas de plantas.

DOI	TÍTULO	PAÍS	AUTORES	TÉCNICAS	FINALIDADE	CULTURA	NEMATOIDE
<a href="https://doi.org/10.1016/j.apsoi.2021.103999">https://doi.org/10.1016/j.apsoi.2021.103999</a>	Next-generation sequencing of the soil nematode community enables the sustainability of banana plantations to be monitored	Uganda; Reino Unido	(BELL et al., 2021)	NGS; PCR	Identificação; Monitoramento	Banana; Café	Aphelenchoides; Alaimus; Oscheius; Rhabdolaimus; Mesodorylaimus; Ditylenchus
<a href="https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100625">https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100625</a>	Selection and validation of suitable reference genes for quantitative real time PCR analysis of gene expression studies in patchouli under Meloidogyne incognita attack and PGPR treatment	India	(BORAH et al., 2020)	qRT-PCR;	Identificação; Controle	Patchouli	Meloidogyne incognita
<a href="https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.11.054">https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.11.054</a>	Comparative transcriptome analysis of genes involved in the response of resistant and susceptible peach cultivars to nematode infection	China	(CAO et al., 2017)	NGS; qRT-PCR	Identificação; Controle	Pêssego	Meloidogyne incognita
<a href="https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.09.006">https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.09.006</a>	Exposure to double-stranded RNA mediated by tobacco rattle virus leads to transcription up-regulation of effector gene Mi-vap-2 from Meloidogyne incognita and promotion of pathogenicity in progeny	China	(CHI et al., 2016)	RNAi; qRT-PCR	Identificação; Controle	Tabaco selvagem	Meloidogyne incognita
<a href="https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61557-5">https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61557-5</a>	Occurrence, identification and phylogenetic analyses of cereal cyst nematodes (Heterodera spp.) in Turkey	China; Turquia	(CUI et al., 2017)	PCR;	Identificação; Monitoramento	Trigo; Cevada	Heterodera filipjevi; Heterodera latipons; Heterodera avenae
<a href="https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110670">https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110670</a>	Expression interference of a number of Heterodera avenae conserved genes perturbs nematode parasitic success in Triticum aestivum	Índia	(DUTTA et al., 2020)	HIGS; RNAi; PCR; qRT-PCR	Identificação; Controle	Trigo	Heterodera avenae
<a href="https://doi.org/10.1016/j.mcp.2016.02.003">https://doi.org/10.1016/j.mcp.2016.02.003</a>	The use of real-time polymerase chain reaction with high resolution melting (real-time PCR-HRM) analysis for the detection and discrimination of nematodes Bursaphelenchus xylophilus and Bursaphelenchus mucronatus	Polônia	(FILÍPIA K; HASIÓW-JAROSZEWSKA, 2016)	PCR-HRM em tempo real	Identificação; Monitoramento	Pinheiro	Bursaphelenchus xylophilus; Bursaphelenchus mucronatus
<a href="https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62105-7">https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62105-7</a>	Chemical mutagenesis and soybean mutants potential for identification of novel genes conferring resistance to soybean cyst nematode	China	(GE et al., 2018)	NGS; PCR	Identificação; Controle	Soja	Heterodera glycines
<a href="https://doi.org/10.1016/j.pmp.2021.101630">https://doi.org/10.1016/j.pmp.2021.101630</a>	The Mi-EFF1/Minc17998 effector interacts with the soybean GmHub6 protein	Brasil; França	(MENDES et al., 2021b)	RNAi; PCR; qRT-PCR	Identificação; Controle	Soja	Meloidogyne incognita

	to promote host plant parasitism by <i>Meloidogyne incognita</i>						
<a href="https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61446-6">https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61446-6</a>	Bacterial artificial chromosome library construction of root-knot nematode resistant pepper genotype HDA149 and identification of clones linked to Me3 resistant locus	China	(GUO et al., 2017)	PCR	Identificação; Controle	Pimenta	<i>Meloidogyne</i> spp. ( <i>M. arenaria</i> , <i>M. javanica</i> , and <i>M. incognita</i> )
<a href="https://doi.org/10.1016/j.pestb.2021.104902">https://doi.org/10.1016/j.pestb.2021.104902</a>	Molecular characterization and functional analysis of multidrug resistance-associated genes of Pinewood nematode ( <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> ) for nematicides	China	(HAO et al., 2021)	RNAi; PCR; qRT-PCR	Identificação; Controle	Pinheiro	<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>
<a href="https://doi.org/10.1016/j.cropr.2021.105617">https://doi.org/10.1016/j.cropr.2021.105617</a>	Real time PCR assays to detect and quantify the nematodes <i>Pratylenchus vulnus</i> and <i>Mesocriconema xenoplax</i>	Estados Unidos	(HODSON; CICCHESTO; FIERRO, 2021)	qRT-PCR	Identificação; Monitoramento	Amêndoas; Nozes	<i>Pratylenchus vulnus</i> ; <i>Mesocriconema xenoplax</i>
<a href="https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110271">https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110271</a>	The <i>Heterodera glycines</i> effector Hg16B09 is required for nematode parasitism and suppresses plant defense response	China	(HU et al., 2019)	RNAi; PCR; qRT-PCR	Identificação; Controle	Soja	<i>Heterodera glycines</i>
<a href="https://doi.org/10.1016/j.pmp.2021.101627">https://doi.org/10.1016/j.pmp.2021.101627</a>	Identificação baseada em RNA-seq de genes de resistência potencial contra o nematóide de cisto de soja ( <i>Heterodera glycines</i> ) HG Tipo 1.2.3.5.7 em 'Dongnong L-10'	China	(JIANG et al., 2021)	PCR; qRT-PCR	Identificação; Controle	Soja	<i>Heterodera glycines</i>
<a href="https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110592">https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110592</a>	Conferring root-knot nematode resistance via host-delivered RNAi-mediated silencing of four <i>Mi-mps</i> genes in <i>Arabidopsis</i>	Índia	(JOSHI et al., 2020)	RNAi (HD-RNAi); RNAi; PCR; qRT-PCR	Identificação; Controle	<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>
<a href="https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.08.015">https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.08.015</a>	Genomic-assisted phylogenetic analysis and marker development for next generation soybean cyst nematode resistance breeding	Estados Unidos	(KADAM et al., 2015)	PCR; digital polymerase chain reaction (dPCR); qRT-PCR	Identificação; Controle	Soja	<i>Heterodera glycines</i>
<a href="https://doi.org/10.1016/j.apsoi.2021.103974">https://doi.org/10.1016/j.apsoi.2021.103974</a>	Development and application of a DNA metabarcoding method for comprehensive analysis of soil nematode communities	Japão; Reino Unido	(KAWANOBE; TOYOTA; RITZ, 2021)	NGS; PCR; qRT-PCR	Identificação; Monitoramento		<i>Criconematidae</i> ; <i>Helicotylenchus</i> sp.; <i>Hoplolaimus</i> sp.; <i>Meloidogyne</i> sp.; <i>Pratylenchus</i> sp.; <i>Rotylenchulus</i> sp.; <i>Tylenchorhynchus</i> sp.; <i>Xiphinema</i> sp.
<a href="https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.12.003">https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.12.003</a>	The miRNAome dynamics during developmental and metabolic reprogramming of tomato root infected with potato cyst nematode	Polônia	(KOTERA et al., 2018)	NGS; RNAi; PCR; qRT-PCR	Identificação; Controle	Tomate	<i>Globodera rostochiensis</i>

<a href="https://doi.org/10.1016/j.plgen.2020.100255">https://doi.org/10.1016/j.plgen.2020.100255</a>	Next generation sequencing based transcriptome analysis for nematode resistance in different species of tomato	Índia	(KULSHR ESTHA; PARIHAR; PARIHAR, 2020)	NGS; qRT-PCR	Identificação; Controle	Tomate	Meloidogyne incognita; Meloidogyne javanica
<a href="https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.03.042">https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.03.042</a>	Molecular characterization of FMRamide-like peptides in Meloidogyne graminicola and analysis of their knockdown effect on nematode infectivity	Índia	(KUMARI et al., 2017)	RNAi; PCR; qRT-PCR	Identificação; Controle	Arroz	Meloidogyne graminicola
<a href="https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61485-5">https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61485-5</a>	Morphological and molecular characterizations of cereal cyst nematode Heterodera avenae Wollenweber, 1924 from the Czech Republic	República Tcheca	(KUMARI, 2017)	PCR	Identificação; Monitoramento	Trigo; Cereias não identificadas	Heterodera avenae
<a href="https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)61003-0">https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)61003-0</a>	Parasitism and pathogenicity of Radopholus similis to Ipomoea aquatica, Basella rubra and Cucurbita moschata and genetic diversity of different populations	China	(LI et al., 2016)	PCR; PCR-RFLP	Identificação; Monitoramento	Espinafre aquático; Espinafre malabar ; Abóbora	Radopholus similis
<a href="https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103690">https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103690</a>	Proteomics unravels new candidate genes for Meloidogyne resistance in wild Arachis	Brasil	(MARTINS et al., 2020)	qRT-PCR	Identificação; Controle	Amendoim selvagem	Meloidogyne arenaria
<a href="https://doi.org/10.1016/j.exppara.2021.108153">https://doi.org/10.1016/j.exppara.2021.108153</a>	Minc00344 and Mj-NULG1a effectors interact with GmHub10 protein to promote the soybean parasitism by Meloidogyne incognita and M. javanica	Brasil; França	(MENDES et al., 2021a)	RNAi; qRT-PCR	Identificação; Controle	Soja	Meloidogyne incognita; M. javanica
<a href="https://doi.org/10.1016/j.gene.2021.145748">https://doi.org/10.1016/j.gene.2021.145748</a>	An improved draft genome assembly of Meloidogyne graminicola IARI strain using long-read sequencing	Índia	(SOMVA NSHI et al., 2021)	RNAi	Identificação; Controle	Arroz	Meloidogyne graminicola
<a href="https://doi.org/10.1016/j.pbio.2019.03.006">https://doi.org/10.1016/j.pbio.2019.03.006</a>	Genome-wide identification and expression analysis of dormancy-associated gene 1/auxin repressed protein (DRM1/ARP) gene family in Glycine max	Brasil	(SOUZA et al., 2019)	qRT-PCR	identificação; controle	Soja	Meloidogyne javanica
<a href="https://doi.org/10.1016/j.cj.2019.04.003">https://doi.org/10.1016/j.cj.2019.04.003</a>	Deep genotyping of the gene GmSNAP facilitates pyramiding resistance to cyst nematode in soybean	China; Alemanha	(TIAN et al., 2019)	PCR	Identificação; Controle	Soja	Heterodera glycines
<a href="https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2016.01.008">https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2016.01.008</a>	Double-stranded RNA-mediated interference of dumpy genes in Bursaphelenchus xylophilus by feeding on filamentous fungal transformants	China	(WANG et al., 2016)	RNAi; PCR; qRT-PCR	Identificação; Controle	Pinheiro	Bursaphelenchus xylophilus
<a href="https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62766-8">https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62766-8</a>	Molecular characterization and functional analysis of two new lysozyme genes from soybean cyst nematode (Heterodera glycines)	China; Noruega	(WANG et al., 2019)	RNAi; PCR; qRT-PCR	Identificação; Controle	Soja	Heterodera glycines

<a href="https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108772">https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108772</a>	Analysis of the root-knot nematode ( <i>Meloidogyne incognita</i> ) resistance and Ma gene cloning in Xinjiang wild ( <i>Prunus sogdiana</i> ) myrobalan plums	China	(XIAO et al., 2020)	PCR; qRT-PCR	Identificação; Controle	Ameixa silvestre de myrobalan	<i>Meloidogyne incognita</i>
<a href="https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.02.010">https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.02.010</a>	Molecular characterization of <i>Ditylenchus destructor</i> voltage-gated calcium channel $\alpha 1$ subunits and analysis of the effect of their knockdown on nematode activity	China	(YE et al., 2020)	RNAi; PCR; qRT-PCR	Identificação; Controle	Batata; Batata doce	<i>Ditylenchus destructor</i>
<a href="https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.08.014">https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.08.014</a>	Nematode-Encoded RALF Peptide Mimics Facilitate Parasitism of Plants through the FERONIA Receptor Kinase	China; Estados Unidos	(ZHANG et al., 2020)	HIGS; RNAi; PCR; qRT-PCR	Identificação; Controle	<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>