



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE BIODIVERSIDADE DE FLORESTAS
BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA**

VINÍCIUS SOUSA LIMA

**POLIMORFISMO NA FAMÍLIA APHELENCHOIDIDAE POR
PADRÕES MOLECULARES PARA OS GENES 18S, 28S E COI,
E REGIÃO ITS**

**Santarém
2019**

VINÍCIUS SOUSA LIMA

**POLIMORFISMO NA FAMÍLIA APHELENCHOIDIDAE POR
PADRÕES MOLECULARES PARA OS GENES 18S, 28S E COI,
E REGIÃO ITS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de graduação em Biotecnologia para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia; Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas.

Orientador: Carlos Ivan Aguilar Vildoso.

Santarém

2019

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA

L732p Lima, Vinicius Sousa

Polimorfismo na família *Aphelenchoiidae* por padrões moleculares para os genes 18S, 28S, e COI e região ITS. / Vinicius Sousa Lima. – Santarém, 2019.

109 p.: il.

Inclui bibliografias.

Orientador: Carlos Ivan Aguilar Vildoso

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas, Curso de Bacharelado em Biotecnologia.

1. Diferenciação molecular. 2. Diagnóstico. 3. Taxonomia. I. Vildoso, Carlos Ivan Aguilar, *orient.* II. Título.

CDD: 23 ed. 572.8

VINÍCIUS SOUSA LIMA

**POLIMORFISMO NA FAMÍLIA APHELENCHOIDIDAE
POR PADRÕES MOLECULARES PARA OS GENES 18S,
28S E COI, E REGIÃO ITS**

Trabalho de conclusão do curso apresentado ao curso de graduação de Biotecnologia para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia; Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas.

Conceito:

Data de aprovação: ____/____/____

Termo de Aprovação:

Prof. Dr. Carlos Ivan Aguilar-Vildoso - Orientador
Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA (IBEF)

Prof. Dr. Marcos Prado Lima – 1º Examinador
Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA (ICTA)

Prof. Dr. Gabriel Iketani Coelho – 2º Examinador
Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA (ICED)

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Ivan Aguilar Vildoso, que acreditou no potencial do projeto, incentivando, criticando, discutindo e auxiliando de todas as formas possíveis.

Aos meus pais, Angela Maria Moraes de Sousa e Valdeci Alves de Lima, irmãs, Bruna Sousa Lima e Beatriz Sousa Lima, e a minha sobrinha Lohane Sousa Catunda, que estavam me apoiando em todos os momentos da minha vida, principalmente nesse. Depositando amor, carinho, segurança, conforto e tempo que foram essenciais em mais esta etapa.

Aos meus amigos da Biotecnologia 2013, Aline Oliveira, Amanda Lima, Antonio Vitor, Ariane Nicaretta, Ezequias Torres, Gabriela Dourado e Walberson Reatgui, que compartilharam comigo todas as dificuldades, desafios e conquistas que este curso nos proporcionou durante todos estes anos. Sou muito grato por tudo que passamos.

Aos meus amigos que a vida, além da biotecnologia, me presenteou, Adriano Fontenelle, Daniela Fontineli, Daiane Rodrigues, Emily Pinheiro, Erick Sakaguchi, Jordan Aguiar, Karina Sousa, Luan Machado, Rafael Rodrigues, Thaiza Rodrigues e Yasmin Almeida. Obrigado por tudo!

Aos meus amigos de estágio, Erick Coelho, Izabelle Sena, João Paulo e Shaira Castro, que me auxiliaram na realização de diversos projetos e estiveram presentes na rotina do laboratório.

À Profa. Dr. Kelly Castro por ter acreditado e lutado em prol dos direitos dos alunos de biotecnologia frente a coordenação. E aos demais docentes que transmitiram conhecimento da melhor forma que puderam e instigaram a busca pelo conhecimento durante esses anos.

Ao universo que proporcionou minha presença no mesmo espaço e tempo que todas essas pessoas maravilhosas.

Muito Obrigado!

RESUMO

Os fitonematóides da família Aphelenchoididae apresentam grande importância econômica e social por ocasionarem perdas elevadas em diversas culturas. O reconhecimento preciso é importante para um manejo adequado destes fitonematóides e a identificação molecular seria a resolução deste problema, para suprir a falta de especialistas. No entanto, diversos fatores dificultam a identificação molecular, como erros no banco de dados (GenBank) e a análise superficial e/ou incorreta das sequências biológicas através de ferramentas de bioinformática. Este trabalho visou obter e analisar padrões moleculares, identificando suas variações dentro dos táxons nos genes 18S, 28S e COI, e na região ITS dos Nematóides da família Aphelenchoididae. Para isso, foram obtidas 1863 sequências biológicas no GenBank, das regiões ribossomais, foram 641 para o 28S (34,41%), 566 para a região ITS (30,38%) e 370 para o gene 18S (19,86%), enquanto que para o gene mitocondrial COI, foram 286 (15,35%). Para a identificação de erros e determinação do tamanho dos amplicons com primers universais, foi utilizado o alinhamento simples realizado pelo Blast2seq. Além disso, o tamanho das subunidades da região ITS foi identificado através da comparação com os tamanhos pré-determinados no Genbank ou através de estimativas para as espécies que não possuíam tamanhos pré-determinados. A obtenção de padrões moleculares foi realizada pelo servidor CAP3 e, em seguida, confirmados pelo servidor ABGD. As variações intraespecífica, interespecífica e intergenérica foram estimadas da matriz de distâncias simples do ABGD. Foram identificadas 17 sequências com erros no banco de dados (0,68%), 13 sequências com anotações erradas, uma sequência curta, duas sequências invertidas e uma sequência quimera. Foi possível, também, identificar 30 sequências a nível de espécies, antes anotadas como “sp.”, 18 para o gene 18S, 11 para 28S e 1 para COI. Os resultados demonstram a importância de uma pré-análise detalhada das sequências depositadas no banco de dados antes do seu uso. A divergência entre os tamanhos dos amplicons ocorreu para todos os gêneros da família Aphelenechoididae para os genes 18S, 28S e para a região ITS. Para o gene mitocondrial COI, a diferenciação foi total para o gênero *Laimaphelenchus*, no entanto, não ocorreu para os gêneros: *Ektaphelenchoides*, *Ektaphelenchus*, *Ficophagus*, *Pseudaphelenchus*, *Robustodorus*, *Ruehmaphelenchus* e *Sheraphelenchus*. Além disso, as subunidades auxiliam em uma identificação mais consistente para a região ITS. As variações intraespecífica, interespecífica e intergenérica foram identificadas nos genes 18S, 28S e COI, mantendo um padrão em cada variação,

diferenciando espécies e gêneros, com algumas exceções, no entanto, para a região ITS, não houve padrão definido para as variações identificadas, não sendo possível a diferenciação a nível de espécie ou gênero para a maioria dos padrões utilizados, ratificando, assim, a maior instabilidade dessa região ribossomal.

Palavras-chave: Diagnóstico. Diferenciação molecular. Taxonomia.

ABSTRACT

The phytonematodes from Aphelenchoididae family are responsible for a great economic and social importance because they cause high losses in many cultures. Accurate recognition is important for a proper management of these phytonematodes, and the molecular identification would solve this problem due to the lack of specialists. However, several factors make the molecular identification difficult, such as errors in the database (GenBank) and the superficial and / or incorrect analysis of biological sequences through bioinformatics tools. This work aimed to obtain and analyze molecular patterns, identifying their variations within the taxa in the genes 18S, 28S and COI, and in the ITS region from Aphelenchoididae family nematodes. 1863 biological sequences were obtained from GenBank, from the ribosomal regions, 641 sequences were obtained for 28S (34.41%), 566 for the ITS region (30.38%) and 370 for the 18S gene (19.86%), and for the mitochondrial COI gene, 286 were obtained (15.35%). For the errors identification and the amplicons size determination with universal primers, the simple alignment was performed by Blast2seq. In addition, the ITS subunits size of the region was identified by comparison with the predetermined sizes in Genbank or by estimates for species that didn't have pre-determined sizes. Obtaining molecular patterns was performed by the CAP3 server and then confirmed by the ABGD server. In addition, intraspecific, interspecific and intergeneric variations were estimated from by simple distances matrix from ABGD. 17 sequences with errors were identified in the database (0.68%), 13 sequences with wrong annotations, one short sequence, two inverted sequences and one chimeric sequence. It was also possible to identify 30 sequences at the species level, previously annotated as "sp", 18 for the 18S gene, 11 for 28S and one for COI. The results demonstrate the detailed pre-analysis importance of deposited sequences in database before its use. The divergence between amplicon sizes occurred for all Aphelenechoididae family genera for the 18S, 28S genes and for the ITS region. For the mitochondrial COI gene, the differentiation was total for the genus *Laimaphelenchus*, however, didn't occur for the genera: *Ektaphelenchoides*, *Ektaphelenchus*, *Ficophagus*, *Pseudaphelenchus*, *Robustodorus*, *Ruehmaphelenchus* and *Sheraphelenchus*. In addition, the subunits helped in a more consistent identification for the ITS region. Intraspecific, interspecific and intergeneric variations were identified in the genes 18S, 28S and COI, maintaining a pattern in each variation, differentiating species and genera, with some exceptions, however, for the ITS region, there wasn't a defined pattern for the identified

variations, being not possible to differentiate at a species or genus level for most of the patterns used, thus ratifying the greater instability of this ribosomal region.

Keywords: Diagnosis; Molecular differentiation; Taxonomy;

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1-** Primers utilizados para determinar o comprimento dos amplicons dos genes 18S, 28S, COI e ITS nos padrões moleculares da família Aphelenchoididae.....31
- Tabela 2-** Relação do número de sequências obtidas do NCBI para cada gênero da família Aphelenchoididae no ano de 2015 (LIMA, 2017), e, posteriormente, no ano de 2018 para o gene ribossomal 18S.....33/34
- Tabela 3-** Número de sequências adicionadas no banco de dados GenBank entre os anos de 2015 e 2018 para as espécies correspondentes da família Aphelenchoididae para o gene ribossomal 18S.....34/35
- Tabela 4-** Relação do número de sequências obtidas do NCBI para cada gênero da família Aphelenchoididae no ano de 2015 (LIMA, 2017), e, posteriormente, no ano de 2018 para o gene ribossomal 28S.....35/36
- Tabela 5-** Número de sequências adicionadas no banco de dados GenBank entre os anos de 2015 e 2018 para as espécies correspondentes da família Aphelenchoididae para o gene ribossomal 28S.....36/37
- Tabela 6-** Relação do número de sequências obtidas do NCBI para cada gênero da família Aphelenchoididae no ano de 2015 (LIMA, 2017), e, posteriormente, no ano de 2018 para o gene mitocondrial COI.....37/38
- Tabela 7-** Número de sequências adicionadas no banco de dados GenBank entre os anos de 2015 e 2018 para as espécies correspondentes da família Aphelenchoididae para o gene mitocondrial COI.....38/39
- Tabela 8-** Relação do número de sequências obtidas do NCBI para cada gênero da família Aphelenchoididae no ano de 2015 (LIMA, 2017), e, posteriormente, no ano de 2018 para a região ribossomal ITS.....39/40

Tabela 9- Número de sequências adicionadas no banco de dados GenBank entre os anos de 2015 e 2018 para as espécies correspondentes da família Aphelenchoididae para a região ribossomal ITS.....40/41

Tabela 10- Identificação de espécies de sequências não identificadas a nível de espécie (sp.) pertencentes ao gene ribossomal 18S da família Aphelenchoididae.....42

Tabela 11- Identificação de espécies de sequências não identificadas a nível de espécie (sp.) pertencentes ao gene ribossomal 28S da família Aphelenchoididae.....43

Tabela 12- Tamanho médio ou único, mínimo e máximo dos amplicons dos padrões moleculares dos gêneros pertencentes ao gene ribossomal 18S da família Aphelenchoididae.....46/47

Tabela 13- Tamanho médio ou único, mínimo e máximo dos amplicons dos padrões moleculares dos gêneros pertencentes ao gene ribossomal 28S da família Aphelenchoididae.....48/49

Tabela 14- Tamanho médio ou único, mínimo e máximo dos amplicons dos padrões moleculares dos gêneros pertencentes ao gene mitocondrial COI da família Aphelenchoididae.....49

Tabela 15- Tamanho médio ou único das subunidades ITS1, 5.8S e ITS2, e Tamanho médio ou único, mínimo e máximo do comprimento total dos padrões moleculares dos gêneros pertencentes à região ribossomal ITS da família Aphelenchoididae.....51

Tabela 16- Tamanho médio ou único, mínimo e máximo dos amplicons dos padrões moleculares dos gêneros pertencentes à região ribossomal ITS da família Aphelenchoididae.....52

Tabela 17- Variação de dissimilaridade intraespecífica média, mínima e máxima das espécies da família Aphelenchoididae do gene ribossomal 18S.....54

- Tabela 18-** Variação de dissimilaridade interespecífica média, mínima e máxima dos gêneros da família Aphelenchoididae do gene ribossomal 18S.....55
- Tabela 19-** Variação de dissimilaridade intraespecífica média, mínima e máxima das espécies da família Aphelenchoididae do gene ribossomal 28S.....55/56
- Tabela 20-** Variação de dissimilaridade interespecífica média, mínima e máxima dos gêneros da família Aphelenchoididae do gene ribossomal 28S.....57
- Tabela 21-** Variação de dissimilaridade intraespecífica média, mínima e máxima das espécies da família Aphelenchoididae do gene mitocondrial COI.....57/58
- Tabela 22-** Variação de dissimilaridade interespecífica média, mínima e máxima dos gêneros da família Aphelenchoididae do gene ribossomal COI.....58
- Tabela 23-** Variação de dissimilaridade intraespecífica média, mínima e máxima das espécies da família Aphelenchoididae da região ribossomal ITS.....59/60
- Tabela 24-** Variação de dissimilaridade interespecífica média, mínima e máxima dos gêneros da família Aphelenchoididae da região ribossomal ITS.....60

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1. Importância da família Aphelenchoididae	18
2.1.1. Gênero <i>Aphelenchoides</i>	18
2.1.2. Gênero <i>Bursaphelenchus</i>	19
2.2. CARACTERIZAÇÃO morfológica	20
2.2.1. Gênero <i>Anomyctus</i>	20
2.2.2. Gênero <i>Aphelenchoides</i>	21
2.2.3. Gênero <i>Basilaphelenchus</i>	21
2.2.4. Gênero <i>Bursaphelenchus</i>	21
2.2.5. Gênero <i>Cryptaphelenchus</i>	22
2.2.6. Gênero <i>Devibursaphelenchus</i>	22
2.2.7. Gênero <i>Ektaphelenchoides</i>	22
2.2.8. Gênero <i>Ektaphelenchus</i>	22
2.2.9. Gênero <i>Ficophagus</i>	23
2.2.10. Gênero <i>Laimaphelenchus</i>	23
2.2.11. Gênero <i>Noctuidonema</i>	23
2.2.12. Gênero <i>Peraphelenchus</i>	23

2.2.13. Gênero <i>Pseudaphelenchus</i>	24
2.2.14. Gênero <i>Robustodorus</i>	24
2.2.15. Gênero <i>Ruehmaphelenchus</i>	24
2.2.16. Gênero <i>Schistonchus</i>	24
2.2.17. Gênero <i>Sheraphelenchus</i>	24
2.3. Identificação molecular	25
2.4. Banco de dados e genes filogenéticos	27
3. OBJETIVOS	29
3.1. Objetivo geral:.....	29
3.2. Objetivos específicos:.....	29
4. METODOLOGIA	30
4.1. Obtenção de sequências.....	30
4.2. Pré-análise das sequências	30
4.3. Obtenção dos padrões moleculares	31
4.4. Tamanho dos amplicons dos genes filogenéticos	31
4.5. Determinação das variações intergenérica, interespecífica e intraespecífica	32
5. RESULTADOS.....	34
5.1. Atualização de dados.....	34
5.1.1. Gene 18S	34
5.1.2. Gene 28S	36

5.1.3. Gene COI	38
5.1.4. Região ITS	40
5.2. Identificação de erros em sequências biológicas	42
5.3. Atualização dos padrões moleculares.....	45
5.4. determinação do tamanho dos amplicons para os padrões moleculares.....	46
5.2.1. Gene 18S	46
5.2.2. Gene 28S	48
5.2.3. Gene COI	50
5.2.3. Região ITS	52
5.4. Formação de padrões moleculares através do ABGD e identificação das variações intraespecífica, interespecífica e intergenérica.	55
5.3.1. Gene 18S	55
5.3.2. Gene 28S	57
5.3.3. Gene COI	59
5.3.4. Região ITS	61
6. DISCUSSÃO	63
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
8. REFERÊNCIAS.....	67
9. ANEXOS	73

1. INTRODUÇÃO

Nematóides são animais invertebrados taxonomicamente pertencentes ao filo nematoda, grande parte de vida livre, alimentando-se de diversos micro-organismos como bactérias (bacteriófagos), fungos (micófagos), protozoários (protozoóforos), e de outros nematóides (nematófagos); enquanto outros parasitam animais e plantas (fitonematóides). Os fitonematóides, em sua maioria, habitam o solo e completam seu ciclo de vida parasitando, principalmente, em raízes e parte aérea de plantas hospedeiras, alimentando-se com o auxílio do estilete. Entre os dez principais nematóides de importância econômica como patógenos de plantas, destaca-se duas espécies da família Aphelenchoididae, *Bursaphelenchus xylophilus* e *Aphelenchoides besseyi* os nematóides da madeira do pinheiro e o da ponta branca do arroz, respectivamente (JONES et al., 2013).

O nematóide da madeira do pinheiro é nativo da América do Norte e ocasiona diversos danos a pinheiros em países em que ocorre a sua introdução, como em países asiáticos, no caso do Japão, e europeus, como Portugal e Espanha (MOTA e VIEIRA, 2008). No Brasil, outra espécie de *Bursaphelenchus* destaca-se por causar prejuízos em plantações de coqueiros e palmeiras produtoras de óleo, *B. cocophilus* pode ocasionar perdas de até 60% na produção, além de ocorrer em diversos outros países da América do Sul e Central como Colômbia, Costa Rica, Equador, México, Nicarágua, Panama, Peru, Suriname e Venezuela (FAO, 2011). Além de *B. cocophilus*, apenas outras duas espécies foram descritas no Brasil, *B. mucronatus* e *B. fungivorus*, as quais não provocam danos em plantas (OLIVEIRA et al., 2011; PEREIRA et al., 2013).

O estado do Pará possui a maior plantação contínua de coco do Brasil, com cerca de 20 mil hectares cultivados e uma produção de 400 mil cocos por dia, sendo considerado o quarto maior estado produtor de coco no Brasil (AMAFIBRA, 2017). No entanto, não existem estudos moleculares na literatura da espécie *B. cocophilus* na região amazônica, relatando possíveis diferenciações a nível de espécie ou na formação de grupos moleculares.

Entretanto, a identificação morfológica das espécies da família Aphelenchoididae, principalmente para os gêneros *Aphelenchoides* e *Bursaphelenchus* é uma tarefa de extrema dificuldade, até mesmo para profissionais altamente treinados, por um longo período de tempo. Dessa forma, as análises moleculares surgiram para facilitar e auxiliar

a identificação morfológica para que erros fossem identificados e corrigidos, quando necessário. Essas análises moleculares, visando a identificação das espécies da família Aphelenchoididae vêm se baseando principalmente nas regiões ribossomais ITS (Espaçador Interno Transcrito), 18S e 28S, sendo que estudos recentes do DNA mitocondrial da citocromo oxidase C subunidade I (COI) tem ajudando na identificação de novas espécies (GIBLIN-DAVIS et al., 2005; YE et al., 2006).

Os estudos de diferenciação a nível molecular para as espécies dessa família começaram a ser realizados no século passado, com auxílio do sequenciamento para a determinação de relações intra e interespecíficas (BECKENBACH et al., 1992). Apesar do avanço das técnicas moleculares, muitos erros e controvérsias ainda são encontradas nos trabalhos sobre a identificação correta e prática de espécies e a separação de grupos filogenéticos, como o que ocorre com as espécies do gênero *Bursaphelenchus*, que apresentam a formação de grupos diferentes e que possivelmente podem ser espécies diferentes (SILVA et al., 2016).

Em função da quantidade de sequências depositadas no Genbank, muitas delas não são curadas e pesquisadores e usuários do banco de dados podem fazer uso de forma inadequada ou ter conclusões erradas. Assim, muitos estudos que poderiam ser feitos para facilitar a identificação de gêneros ou até mesmo espécies, auxiliando na identificação morfológica, não estão sendo realizados. Uma das alternativas que poderiam ser utilizadas para estudar o potencial das sequências depositadas na realização de identificação molecular, sem ter que realizar o sequenciamento, seria a determinação do tamanho dos amplicons das principais regiões e genes filogenéticos utilizados via PCR com primers universais.

Dessa forma, seria possível estabelecer padrões de tamanho para determinados gêneros ou espécies, possibilitando uma identificação confiável a partir de técnicas moleculares rotineiras em laboratórios de pesquisa. Portanto, o objetivo do trabalho foi determinar o tamanho da região ITS e genes ribossomais 18S e 28S, além do gene mitocondrial COI, dos padrões moleculares obtidos em 2017 para as espécies de gêneros pertencentes a família Aphelenchoididae.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. IMPORTÂNCIA DA FAMÍLIA APHELENCHOIDIDAE

Existem aproximadamente quatro mil espécies de fitonematóides que ocasionam danos econômicos de aproximadamente 125 bilhões de dólares anualmente (BAKHETIA et al., 2005). A família Aphelenchoididae possui cerca de 17 gêneros depositados no banco de dados (NCBI, 2019), com 150 espécies que podem afetar plantas (MCCUISTON et al., 2007). Entre eles, destacam-se dois gêneros que apresentam espécies de grande importância econômica mundial, *Aphelenchoides* e *Bursaphelenchus*. Entre as principais espécies estudadas neste táxon, destacam-se: *A. besseyi*, *A. fragariae*, *A. ritzemabosi*, *B. mucronatus*, *B. xylophilus* e *B. cocophilus* (MCCUISTON et al., 2007; GOLHASAN et al., 2016).

2.1.1. Gênero *Aphelenchoides*

O gênero *Aphelenchoides* possui 14 parasitas de plantas reportadas em várias partes dos hospedeiros e em pós-colheita (RYBARCZYK-MYDŁOWSKA et al., 2012; SÁNCHEZ-MONGE et al., 2015), sendo que a maioria das espécies do gênero *Aphelenchoides* são micófagos, no entanto, diversas espécies são fitoparasitas que habitam tecidos de plantas (MIRAEIZ et al., 2017), como as espécies *A. besseyi*, *A. fragariae* e *A. ritzemabosi* (MCCUISTON et al., 2007).

A espécie *A. ritzemabosi* é conhecida como o nematoide foliar do crisântemo, distribuído globalmente e ocasiona diversas perdas nesta e em várias outras plantas ornamentais. Além disso, essa espécie de nematoides também causa grandes perdas econômicas no arroz e no morango (ESMAEILI et al., 2017).

A. fragariae é um nematoide foliar que possui um grande grupo de plantas hospedeiras, entre elas, o morango, sendo considerado a maior praga para esta planta. É distribuído entre as zonas tropical e temperada no planeta, e é frequentemente encontrada em viveiros e economicamente prejudicial na produção em larga escala, principalmente na produção de morangos (COBON et al., 2011).

A espécie *A. besseyi* é a espécie de maior importância econômica de *Aphelenchoides*, a qual foi inicialmente descrita no Havai em 1968 por Holtzmann, e

provoca a doença denominada ponta branca (“*white tip*”), que é considerada entre as principais doenças ocasionadas por fitonematóides (LATHA et al., 2017; JONES et al., 2013), provocando perdas estimadas em 16 bilhões de dólares anuais na cultura do arroz (LILLEY et al., 2011). Afetando diretamente na vida e nas necessidades da população, em razão de ser o alimento mais importante na base alimentar dos países asiáticos (LATHA et al., 2017).

O *A. besseyi* invade os tecidos das plantas de arroz no seu estado inicial de desenvolvimento, e os sintomas incluem o aparecimento de pontos cloróticos nas folhas, que se desenvolvem em necroses. A folha que envolve a panícula pode ficar retorcida, levando a uma redução no número e tamanho dos grãos produzidos (HOCKLAND, 2004).

O Brasil é o nono maior produtor de arroz do mundo (FAOSTAT, 2017). A colheita ocorre em cerca de 32 milhões de hectares com uma produção de cerca de três mil quilos por hectare (CONAB, 2015). Diversos fatores afetam negativamente a produção, levando a perdas de até 100% nos estados do Maranhão, Tocantins, Pará e norte do Mato Grosso, ocasionados, de acordo com estudos morfológicos e moleculares, pela espécie *A. besseyi* (MEYER et al., 2008; MEYER et al., 2009; MEYER et al., 2017). Dessa forma, essa espécie causa diversos danos a economia brasileira por perdas na colheita. Além disso, sua associação frequente com sementes de forrageiras pode representar uma barreira fitossanitária na exportação para muitos países em que esse nematoide está listado como uma praga quarentenária (MARCHI et al., 2007).

2.1.2. Gênero *Bursaphelenchus*

O outro gênero da família Aphelenchoididae que possui grande importância social e econômica é o *Bursaphelenchus*. Esse gênero possui espécies que parasitam, principalmente, palmeiras e árvores coníferas. *Bursaphelenchus xylophilus*, por exemplo, afeta espécies de pinus, uma das mais importantes árvores produtoras de madeira no mundo, possuindo uma série de benefícios sociais e uma grande importância econômica (MENG et al., 2017). Essa espécie é nativa da América do Norte, onde poucas coníferas são mortas por esse nematoide (RUTHERFORD et al., 1990). No entanto, sua introdução em outros locais como na Europa e no Oeste da Ásia ocasiona perdas econômicas enormes pela devastação das florestas (MENG et al., 2017).

B. mucronatus é outra espécie do mesmo gênero que possui o mesmo hospedeiro (BECKENBACH, 1992) e já foi descrita no Brasil, juntamente com *B. cocophilus*, o agente causal do anel vermelho do coqueiro, que provoca perdas de cerca de 60% nas plantações de coco e na indústria de óleo de palma na Colômbia, Brasil e outros países da América do Sul (OLIVEIRA et al., 2011; FAO, 2011). No Brasil, encontra-se difundindo em diversos estados nordestinos, além do Pará, Rio de Janeiro e São Paulo, ocasionando diversos prejuízos econômicos (FERRAZ e BROWN, 2016).

2.2. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

Para a identificação e diferenciação morfológica dessas espécies de nematóides de importância social e econômica para a realização do controle e erradicação corretas, faz-se necessário o trabalho de profissionais altamente experientes. Dessa forma, algumas características específicas são de extrema importância para a identificação e diferenciação de espécies e, conseqüentemente, dos gêneros pertencentes à família Aphelenchoididae. Dos 18 gêneros pertencentes a família, foi possível determinar a descrição de apenas 17: *Anomyctus*, *Aphelenchoides*, *Basilaphelenchus*, *Bursaphelenchus*, *Cryptaphelenchus*, *Devibursaphelenchus*, *Ektaphelenchoides*, *Ektaphelenchus*, *Ficophagus*, *Laimaphelenchus*, *Noctuidonema*, *Peraphelenchus*, *Pseudaphelenchus*, *Robustodorus*, *Ruehmaphelenchus*, *Schistonchus* e *Sheraphelenchus*, com exceção apenas do gênero *Martininema*.

2.2.1. Gênero *Anomyctus*

Para *Anomyctus*, o estilete aparece com duas partes distintas, a parte anterior é quase metade do comprimento da parte posterior. A parte anterior das espécimes inglesas aparece ligeiramente curvada quando vista em posição lateral ou sub-lateral, mas reta em uma visão ventral ou dorsal. A parte anterior do estilete é de espessura desigual e se expande ligeiramente na base. Ambas as partes do estilete, em um espécime vivo, são altamente refratárias. No entanto, quando fixadas em glicerol é menor a sua diferenciação (ALLEN, 1940).

No macho, a cutícula é fortemente anulada, possuindo lábios deslocados por uma constrição profunda, prato de disco frontal semelhante a um pires, seis projeções na abertura oral, testículo com flexão anterior, espículos muito grandes, emparelhados e não

fundidos, cauda cônica, três pares de papilas caudais e três linhas no campo lateral (ALLEN, 1940).

2.2.2. Gênero *Aphelenchoides*

As fêmeas possuem o corpo delgado, cilíndrico, arredondado ventralmente, cutícula fracamente anulada, campo lateral com quatro incisões, região labial arredondada, cauda cônica, geralmente com minúsculas protuberâncias nodulares. A espécie *Aphelenchoides huntensis*, por exemplo, possui estilete de aproximadamente 9 μm de comprimento, região labial arredondada, deslocada, com altura variando de 3 μm a 3,5 μm e largura de 5,5 μm a 7 μm (ESMAEILI et al., 2016).

Os machos também possuem o corpo delgado e cilíndrico, além de testículo solto, localizado a esquerda do intestino, abertura cloacal um pouco protuberante, espículas separadas com comprimento de 29 a 30 μm ao longo da linha mediana cruzada e 37 a 38 μm ao longo do membro dorsal. Três pares de papilas caudais subventrais e bursa ausente (ESMAEILI et al., 2016).

2.2.3. Gênero *Basilaphelenchus*

Este gênero, descrito recentemente, possui como características o comprimento corporal pequeno, as fêmeas com cerca de 297 a 393 μm e 304 a 331 μm para os machos, região encefálica alta, estilete fino, longo, com comprimento de 5,5 a 7,8 μm , cone linear, com nódulos basais alongados. Além disto, possui sistema reprodutivo monodifíciprodelfico e a cauda em ambos os sexos é cônica e, geralmente, curvada ventralmente na ponta (PEDRAM et al., 2018).

2.2.4. Gênero *Bursaphelenchus*

Fêmeas e machos de *Bursaphelenchus* apresentam região cefálica compensada por uma constrição com seis lábios e estilete com nódulos basais fracamente desenvolvidos, bulbo mediano bem desenvolvido, vulva sem aba, cauda longa dobrada nas fêmeas e cauda ventralmente curvada com espículas compactas nos machos, além da presença da bursa, que distingue o gênero (FONSECA et al., 2014). Fêmeas das espécies de *Bursaphelenchus* possuem comprimento de 673.9 a 905.3 μm e 649.5 a 790.3 em machos (UREK et al., 2007).

2.2.5. Gênero *Cryptaphelenchus*

Análises morfométricas em fêmeas e machos da espécie *Cryptaphelenchus variacaudatus*, foi possível identificar características como o corpo ventralmente curvado, com anéis de 1,1 a 1,5 μm de largura, estilete variando de 7,6 a 8 μm de comprimento. As fêmeas da espécie são um pouco maiores 315 a 317 μm de comprimento corporal, enquanto de machos possuem aproximadamente 256 μm (PEDRAM, 2017).

2.2.6. Gênero *Devibursaphelenchus*

Fêmeas e machos da espécie *Devibursaphelenchus wangi* possuem corpo delgado, cilíndrico, cutícula com três incisuras e deslocamento da região labial com cerca de 3,5 μm . As fêmeas da espécie possuem comprimento corporal com 655 μm e estilete com cerca de 16,8 μm de comprimento, os machos, por sua vez, possuem comprimento corporal com cerca de 614,3 μm e estilete com aproximadamente 14, 8 μm (GU et al., 2010).

2.2.7. Gênero *Ektaphelenchoides*

Os indivíduos da espécie *Ektaphelenchoides hunti* possuem corpo delgado, em formato de J, ventralmente arqueado, cutícula finamente anulada. O comprimento corporal de fêmeas desta espécie é de aproximadamente 824 μm , e estilete com cerca de 19,5 μm de comprimento, machos, no entanto, possuem o comprimento corporal de 702,5 μm , e estilete com 17 μm de comprimento (ATIGHI et al., 2012).

2.2.8. Gênero *Ektaphelenchus*

As fêmeas das espécies de *Ektaphelenchus* possuem o corpo delgado, ligeiramente curvado após a fixação, cutícula finamente anulada, corpo lateral com três linhas. Para a espécie *E. berbericus*, a região labial separada do resto do corpo com 7,5 μm a 8,5 μm de largura. Estilete com 19 μm a 22 μm de largura, sem nódulos ou inchaços na base. O macho dessa espécie não foi encontrado. (ALVANI et al., 2016).

2.2.9. Gênero *Ficophagus*

Os indivíduos desse gênero possuem o corpo cilíndrico com campo lateral com três ou quatro incisões levemente visíveis, extremidade anterior não compensada, estilete com 14 μm a 18 μm de comprimento em machos e 16 μm a 22 μm em fêmeas com nódulos basais arredondados bem desenvolvidos. Espículas emparelhadas com 5 μm a 7 μm de largura (DAVIES et al., 2017).

2.2.10. Gênero *Laimaphelenchus*

A fêmea da espécie *Laimaphelenchus penardi*, por exemplo, possui o corpo ventralmente arqueado ou em forma de espiral quando exposto ao calor, anéis com 1 μm a 1,5 μm de largura no meio do corpo. Três incisões no campo lateral, região cefálica arredondada, compensada, com 3 μm a 4 μm de altura e 6,5 μm a 7 μm de largura, com seis setores labiais. Estilete com inchaço basal. Os machos dessa espécie não foram encontrados (AZIZI et al., 2015).

2.2.11. Gênero *Noctuidonema*

Os indivíduos da espécie *Noctuidonema daptria* possuem corpo ventralmente arqueado, robusto, linear e fusiforme, cutícula na superfície ventral, com a ponta da cauda engrossada. As fêmeas adultas desta espécie possuem comprimento corporal que varia de 445 a 584 μm , com estilete que vai de 40 a 49 μm , os machos possuem comprimento corporal que varia de 471 a 517 μm , com estilete com cerva de 58 μm (ANDERSON e LAUMOND, 1992).

2.2.12. Gênero *Peraphelenchus*

As fêmeas da espécie *Peraphelenchus orientalis* possuem corpo cilíndrico, com 100 μm de comprimento, largos, arredondados ventralmente quando expostos ao calor, superfície corporal lisa com anulação fina, cabeça quadrada e estilete longo. Os machos também possuem 100 μm de comprimento, corpo cilíndrico, espículas grandes, em forma de onda e região anterior e estrutura cuticular semelhante à da fêmea (KANZAKI et al., 2013).

2.2.13. Gênero *Pseudaphelenchus*

O macho da espécie *Pseudaphelenchus zhoushanensis* possui o corpo delgado, cutícula fina com anulação fraca, campo lateral em três incisões. Cabeça arredondada, deslocada do corpo, abertura oral arredondada, quatro papilas cefálicas e estilete com 9 a 10,7 μm de comprimento com nódulos basais pequenos. Na fêmea da espécie, a cutícula e o corpo anterior são semelhantes aos do macho, ovário solto, estendido, oócitos bem desenvolvidos, oviduto no formato de tubo (FANG et al., 2016).

2.2.14. Gênero *Robustodoris*

A fêmea da espécie *Robustodoris megadoris* possui o corpo arredondado, em forma de C quando fixado, os campos laterais são marcados com três incisões, crista dorsal claramente anterior à vulva. Ventre com uma ou duas incisões e anéis do corpo com 1 a 1,5 μm na metade do corpo (RYSS et al., 2013).

2.2.15. Gênero *Ruehmaphelenchus*

A espécie *Ruehmaphelenchus juliae* possui tamanho de 737 a 1034 μm de comprimento para machos e 866 a 1291 μm para fêmeas. Corpo cilíndrico, ventralmente arqueado quando morto por calor. Cutícula finamente anulada com um campo lateral com três incisões e região do lábio claramente deslocada do corpo por uma constrição fraca (KANZAKI et al., 2015).

2.2.16. Gênero *Schistonchus*

Os indivíduos da espécie *Schistonchus hirtus* possuem corpo ventralmente arqueado, cutícula com anulação fina, estilete robusto, variando de 14 a 20 μm de comprimento, com nódulos basais fortes. Em fêmeas, os comprimento corporal varia de 368 a 555 μm , em machos, este comprimento varia de 420 a 575 μm (ZENG et al., 2009).

2.2.17. Gênero *Sheraphelenchus*

Indivíduos da espécie *Sheraphelenchus parabrevigulonis* possuem corpo delgado, cilíndrico, arredondado ventralmente, cutícula fina com anulação fina, campo lateral com

três incisões, estilete com pequenas ondulações basais, espículas emparelhadas e bursa ausente em machos e ovidutos do tipo tubo em fêmeas (FANG et al., 2015).

2.3. IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR

A identificação da família Aphelenchoididae era realizada, antigamente, apenas com o auxílio de microscópios e por profissionais experientes na identificação morfológica. Com o passar dos anos, surgiram ferramentas para um apoio e verificação denominadas pela identificação molecular, realizada através da utilização de técnicas como ELISA (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática), e de biologia molecular como a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), que aumentaram, consideravelmente, a precisão e facilidade na identificação (BORÉM e CAIXETA, 2009).

Nos últimos 20 anos, essas técnicas se tornaram mais frequentes na identificação e vem sendo desenvolvidas em uma velocidade surpreendente. Em 2003, por exemplo, as espécies *B. xylophilus* e *B. mucronatus* foram detectadas em florestas de pinheiro da China, importadas do Japão e Coreia, com o auxílio da PCR-RFLP, de sequências da região ITS e do gene 28S com a utilização de primers específicos, auxiliando e validando, assim, a identificação morfológica (ZHENG et al., 2003). Em 2007, os procedimentos para identificação de espécies do gênero *Bursaphelenchus*, sucederam-se de acordo com os métodos de extração de DNA, amplificação por PCR e análises de RFLP com as regiões ITS1 e ITS2, bem como o sequenciamento das regiões amplificadas (UREK et al., 2007).

Atualmente, para análises mais consistentes de diversidade genética e identificação molecular, são utilizadas diversas técnicas moleculares, além de programas e servidores de ferramentas de bioinformática que possibilitam uma análise mais rápida, democrática e consistente, como o BLAST, utilizado, principalmente, para o alinhamento simples de sequências (KANZAKI et al., 2015) e o MEGA, usado, geralmente, para o alinhamento múltiplo e geração de árvores filogenéticas (TAMURA et al., 2011).

Além da utilização de técnicas e programas específicos para a realização da identificação molecular, são, comumente, usados, em diversos trabalhos para a identificação de novas espécies ou na formação de clados de fitonematóides, genes ribossomais (ITS, 28S e 18S) e mitocondriais (COI) (KANZAKI et al., 2015) e, dessa

forma, possuem o maior número de sequências depositadas no banco de dados (Genbank) (NCBI, 2017).

Mais recentemente, novos métodos estão sendo utilizados para a realização da amplificação de DNA, como a LAMP (Amplificação Isotérmica mediada por loop) que utiliza primers específicos para a detecção de regiões distintas no DNA, consistindo na utilização de dois primers externos, um para frente e outro para trás, e dois primers de loop (MENG et al., 2017).

Com o advento do sequenciamento de alta performance, foi possível a realização de análises como alterações isoformicas, identificação de SNP (polimorfismo de sequências únicas) e expressão alelo específica. A análise de SNPs consiste na identificação de divergências mínimas entre as sequências que podem apontar diferenças a nível taxonômico. Essa técnica já foi utilizada para determinar a diversidade genética entre isolados de *B. xylophilus* de diferentes regiões geográficas, no entanto, não foi possível associar essas modificações. Entretanto, os SNPs detectados aumentaram o número de marcas para essa espécie, fornecendo rastreabilidade das vias de dispersão dos variantes dessa espécie, ou de qualquer outra (FIGUEIREDO et al., 2013).

Em estudos posteriores, foi relatado que os SNPs, após a realização do resequenciamento de diversas cepas de populações geograficamente distintas, mostraram-se úteis por constatarem que o nível de diversidade genômica de *B. xylophilus* estava relacionado com a variabilidade fenotípica, incluindo variações de patogenicidade e traços ecológicos (PALOMARES-RIUS et al., 2015).

Mais recentemente, através da utilização de SNPs de duas cepas de *B. xylophilus*, foi possível identificar marcas genéticas em potencial para a diferenciação entre essas duas formas. Com cerca de 117 SNPs, pode-se garantir uma maior confiabilidade na utilização desta técnica. Dessa forma, a análise desses polimorfismos em sequências demonstra uma grande capacidade de diferenciação entre gêneros, e até mesmo espécies e pode contribuir em pesquisas posteriores (DING et al., 2016).

2.4. BANCO DE DADOS E GENES FILOGENÉTICOS

Com o advento das técnicas moleculares e o aumento da demanda por dados moleculares com o passar dos anos para a realização e compartilhamento de pesquisa, foram criados bancos de dados para o armazenamento e distribuição dessa informação. Com isso, foram criados, inicialmente, três bancos de dados internacionais para sequências de ácidos nucleicos, que partilham informações diariamente, o National Center of Biotechnology Information (Estados Unidos), o EMBL data library (Reino Unido) e o DNA data bank of Japan (Japão) (LESK, 2008).

Com a democratização desses dados moleculares, diversos trabalhos, principalmente os de identificação molecular foram realizados através da utilização de sequências presentes nestes bancos para a identificação a nível de gênero ou espécie. Bem como o depósito de novas sequências obtidas a partir do sequenciamento de genes e regiões para facilitar as análises filogenéticas (SILVA et al., 2016).

As análises filogenéticas, principalmente para diagnóstico, são, comumente, baseadas em regiões do DNA ribossomal em função da quantidade de cópias obtidas e do grande número de sequências depositadas no bancos de dados. A região ITS é uma das mais utilizadas para a identificação molecular e em análises moleculares em muitas espécies de nematóides e, dessa forma, também, para análises em espécies da família Aphelenchoididae (ZHOU et al., 2016). Bem como os genes 18S e 28S para a identificação de novas espécies, por exemplo (FANG et al., 2016) e o gene mitocondrial (COI), que, geralmente, não possuem muitas sequências no banco de dados (SILVA et al., 2016; NCBI, 2018).

Apesar do advento das técnicas moleculares e da difusão da utilização de vários genes filogenéticos, as técnicas morfológicas estão ainda bastante associadas e mostram que uma técnica não substitui a outra e sim complementa, como o que ocorre na identificação de novas espécies, caso da espécie *Bursaphelenchus saudi*, que utilizou análises moleculares com a utilização da região ITS e dos genes 18S e 28S juntamente com as análises morfológicas para realizar uma identificação correta e apropriada (GU et al., 2016), e conciliando a identificação morfológica e molecular.

Na família Aphelenchoididae, os gêneros *Aphelenchoides* e *Bursaphelenchus* são os mais estudados no mundo em razão da importância econômica que algumas espécies apresentam (AGRIOS, 2004). Para os outros gêneros, entretanto, não existem muitos trabalhos na literatura em relação a análises filogenéticas, assim, as análises ainda se baseiam em características morfológicas, como o que acontece, por exemplo para a identificação de novas espécies para o gênero *Ficophagus* (DAVIES et al., 2017).

A conciliação das técnicas, tanto moleculares, como morfológicas, é importante também devido a quantidade de erros encontrados em bancos de dados públicos, acarretando diversas consequências para pesquisas futuras. Esses erros ocorrem, principalmente, pelo sequenciamento incorreto, ocasionando problemas com a anotação e, conseqüentemente, identificação de táxons (CLARK E WHITTAM, 1992).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL:

- Obter padrões moleculares com suas variações dentro dos táxons nos genes filogenéticos dos nematóides da família Aphelenchooididae.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Atualizar as sequências biológicas provenientes do banco de dados (GenBank);
- Identificar erros em sequências biológicas provenientes do banco de dados (GenBank);
- Atualizar os padrões moleculares obtidos a partir das sequências biológicas atualizadas;
- Determinar as espécies pertencentes as sequências que não possuem identificação a nível de espécie (sp.) para os genes 18S, 28S, COI e da região ITS;
- Diferenciar padrões moleculares em função dos tamanhos dos amplicons dos genes 18S, 28S, COI e da região ITS;
- Identificar os tamanhos das subunidades que formam a região ITS para auxiliar na diferenciação de padrões moleculares;
- Identificar o número de padrões moleculares formados através do servidor ABGD para os genes 18S, 28S, COI e para a região ITS;
- Determinar as variações intraespecífica, interespecífica e intergenérica dos genes 18S, 28S, COI e da região ITS;

4. METODOLOGIA

4.1. OBTENÇÃO DE SEQUÊNCIAS

As sequências de nucleotídeos dos genes filogenéticos dos Nematóides da família Aphelenchoididae (genes 18S, 28S e COI, e da região ITS) foram obtidas em formato fasta no GenBank (NCBI, 2019) inicialmente por Lima (2017) em 20 de maio de 2015 e atualizadas em 01 de outubro de 2018.

Em 2015, foram obtidas, um total de 2.330 sequências da família depositas no banco de dados, e foram obtidas 1) 559 (23,99%) de 28S; 2) 491 (21,07%) sequências ITS; 3) 328 (14,07%) de 18S; e 4) 237 (10,17%) de COI. Com a atualização dos dados, em 2018, foram mais 133 (5,71%) novas sequências para os quatro genes estudados, 49 novas sequências para a região ITS (36, 84%), 38 para 28S (28,57%), 28 para COI (21,05%) e 18 para o gene 18S (13,53%).

4.2. PRÉ-ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS

Uma pré-análise foi realizada para a identificação das sequências com algum tipo de problema, para não comprometer as próximas análises: como: 1) a falta de anotação ao nível de espécie, as sequências “sp.” foram usadas após a definição dos padrões moleculares e da sua variação para a sua identificação taxonômica; 2) a anotação taxonômica errada, ou seja, sequências que estão em um determinado táxon no banco de dados, mas que, na verdade, pertencem a outro táxon; 3) erros de sequenciamento, com a identificação de sequências que possuem bases não definidas (‘N’s) ou com excesso de bases degeneradas; 4) sequências invertidas, as quais foram usadas após o seu complemento reverso, porque no alinhamento múltiplo são usadas diretamente o qual provoca erros graves de análise e posteriormente de interpretação; 5) sequências curtas, com menos de 350 pb ou com sequências maiores porém com pequena cobertura na região do gene filogenético, as quais provocam erros na formação das árvores filogenéticas ou em outras análises; e 6) sequências quimeras, que são sequências com partes de outros genes ou organismos em sua composição, originadas, provavelmente, a partir de contaminações, as quais afetam desde o alinhamento múltiplo. Todos esses erros foram identificados através do alinhamento simples realizado pelo Blast bl2seq (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). As sequências identificadas como invertidas,

foram corrigidas através da plataforma *Bioinformatics Organization* (<http://www.bioinformatics.org/>), para obtenção do complemento reverso destas sequências.

4.3. OBTENÇÃO DOS PADRÕES MOLECULARES

O desenvolvimento dos padrões moleculares foi realizado em duas etapas. Primeiro obtendo os clados formados por todas as sequências obtidas de cada espécie nas árvores filogenéticas através da plataforma francesa de bioinformática *Phylogeny* (www.phylogeny.fr); e a segunda etapa foi obter uma sequências representativa ou consenso delas pelo uso do *CAP3 Sequence Assembly Program* (<http://pbil.univ-lyon1.fr/cap3.php>), no qual são inseridas as sequências que foram agrupadas previamente pela árvore filogenética, o CAP3 realiza internamente um alinhamento múltiplo pelo software Muscle, para depois gerar uma sequências representativa de todas que representam o clado. Os padrões foram separados em três tipos: 1) sequências únicas; 2) com duas sequências e 3) consensos, quando eram obtidos com três ou mais sequências.

Em Lima (2017) foram obtidos os seguintes padrões moleculares: para o gene 18S, 87 com apenas uma sequências (81,30%), nove com duas sequências (8,41%) e 11 consensos (10,28%); Para o gene 28S, 86 sequências com uma sequências (71,07%), 13 com duas sequências (10,74%) e 22 consensos (18,18%); Para o gene COI, 56 com uma sequências (77,77%), seis com duas sequências (8,33%) e dez consensos (13,88%); e para a região ITS, 47 padrões com apenas uma sequências (51,64%); 18 com duas sequências (19,78%) e 26 consensos (28,57%). Estes padrões, obtidos inicialmente, foram utilizados para a continuação das análises deste trabalho.

4.4. TAMANHO DOS AMPLICONS DOS GENES FILOGENÉTICOS

Para a determinação do tamanho total dos amplicons dos genes 18S, 28S e COI, e da região ITS nos padrões moleculares, foram utilizados primers universais internos dos experimentos realizados nos principais artigos presentes na literatura da família Aphelenchoididae para cada gene (Tabela 1). Os primers encontrados foram alinhados com os padrões moleculares estudados através do Blast2seq.

Para a determinação das subunidades que formam a região ITS (ITS1, 5.8S e ITS2), foram utilizadas anotações no Genbank sobre o tamanho das subunidades, contendo início e fim de cada uma. Após a identificação do tamanho das subunidades, realizou-se alinhamento simples dos padrões moleculares com as sequências que estavam com tamanho de subunidades definido no software MEGA7 (KUMAR et al., 2016), preferencialmente com a mesma espécie ou mesmo gênero, para determinar a posição em que as subunidades se encontravam no padrão molecular estudado. Para as espécies que não possuíam referências de tamanho no banco de dados, foram realizadas estimativas dos tamanhos das regiões baseando-se em espécies filogeneticamente próximas.

Tabela 1 - Primers utilizados para determinar o comprimento dos amplicons dos genes 18S, 28S, COI e ITS nos padrões moleculares da família Aphelenchoididae.

Gene	Origem	Código dos primers Forward (F) e Reverse (R)
18S	Holterman <i>et al.</i> (2006)	F- 1096F (5' – GGTAATTCTGGAGCTAATAC - 3') R- 1912R (5' – TTTACGGTCAGAACTAGGG - 3')
28S	Nunn (1992)	F-D2A (5' – ACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTG - 3') R-D3B (5' – TCGGAAGGAACCAGCTACTA - 3')
COI	Kanzaki e Futai (2002)	F-COI-F1 (5'-CCTACTATGATTGGTGGTTTTGGTAATTG-3') R-COI-R2 (5'-GTAGCAGCAGTAAAATAAGCACG-3')
ITS	Bae <i>et al.</i> (2009)	F- Hoc-1f (5' – AACCTGCTGCTGGATCATTA – 3') R -LSUD-03r (5' – TATGCTTAAGTTCAGCGGGT– 3')

4.5. DETERMINAÇÃO DAS VARIAÇÕES INTERGENÉRICA, INTERESPECÍFICA E INTRAESPECÍFICA

Para a determinação das variações entre os padrões moleculares entre gêneros (intergenérica), entre espécies do mesmo gênero (interespecífica) e entre as sequências que formam os padrões moleculares (intraespecífica), foi utilizado o servidor ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery), modificando a largura relativa do gap de acordo com o grupo taxonômico utilizado e usando a distância simples, determinando a variação

entre as sequências estudadas por meio de uma matriz de dissimilaridade. Este servidor também foi utilizado para determinar os grupos de formação das espécies, auxiliando a identificação de possíveis novas espécies incluindo as sequências não identificadas à nível de espécie (sp.), assim como a validação dos dados obtidos.

5. RESULTADOS

5.1. ATUALIZAÇÃO DE DADOS

A introdução de novas sequências no NCBI ocorre continuamente, sendo que no período de três anos houve até a descrição de um novo gênero *Basilaphelenchus* para a família Aphelenchoididae, pelo qual houve uma necessidade de rever os dados e padrões moleculares obtidos previamente (LIMA, 2017), para a realização da determinação do polimorfismo dos padrões moleculares, assim como houve a constatação de retirada de sequências do NCBI. Houve continuidade de detecção de sequências com algum tipo de problema para uso direto em estudos de filogenia ou identificação molecular.

5.1.1. Gene 18S

Em 2015, haviam 352 sequências para o gene 18S. Após três anos, os dados foram atualizados, com a introdução de 23 novas sequências em oito dos 18 gêneros da família Aphelenchoididae (Tabela 2), seis para o gênero *Aphelenchoides*, cinco para *Basilaphelenchus* e *Bursaphelenchus*, duas para *Laimaphelenchus* e *Pseudaphelenchus*, e uma para *Cryptaphelenchus*, *Ektaphelenchus* e *Sheraphelenchus* (Tabela3).

Tabela 2 - Relação do número de sequências obtidas do NCBI para cada gênero da família Aphelenchoididae no ano de 2015 (LIMA, 2017), e, posteriormente, no ano de 2018 para o gene ribossomal 18S.

Gênero	Sequências (2015)	Sequências (2018)
<i>Anomyctus</i>	1	1
<i>Aphelenchoides</i>	147	153
<i>Basilaphelenchus</i>	0	5
<i>Bursaphelenchus</i>	125	130
<i>Cryptaphelenchus</i>	2	3
<i>Devibursaphelenchus</i>	6	6
<i>Ektaphelenchoides</i>	2	2
<i>Ektaphelenchus</i>	4	5
<i>Ficophagus</i>	2	2

Continua

Tabela 2 - Relação do número de sequências obtidas do NCBI para cada gênero da família Aphelenchoidea no ano de 2015 (LIMA, 2017), e, posteriormente, no ano de 2018 para o gene ribossomal 18S.

Gênero	Sequências (2015)	Sequências (2018)
<i>Laimaphelenchus</i>	7	9
<i>Martininema</i>	-	-
<i>Noctuidonema</i>	1	1
<i>Peraphelenchus</i>	1	1
<i>Pseudaphelenchus</i>	7	9
<i>Robustodorus</i>	1	1
<i>Ruehmaphelenchus</i>	3	3
<i>Schistonchus</i>	40	40
<i>Sheraphelenchus</i>	3	4
Total	352	375

Tabela 3 - Número de sequências adicionadas no banco de dados GenBank entre os anos de 2015 e 2018 para as espécies correspondentes da família Aphelenchoidea para o gene ribossomal 18S.

Espécie	Número de sequências
<i>Aphelenchoides besseyi</i>	4
<i>Aphelenchoides fragariae</i>	1
<i>Aphelenchoides fujianensis</i>	1
<i>Basilaphelenchus</i> spp.	0
<i>Bursaphelenchus conicaudatus</i>	1
<i>Bursaphelenchus hofmanni</i>	1
<i>Bursaphelenchus luxuriosae</i>	1
<i>Bursaphelenchus rainulfi</i>	1

Continua

Tabela 3 - Número de sequências adicionadas no banco de dados GenBank entre os anos de 2015 e 2018 para as espécies correspondentes da família Aphelenchoididae para o gene ribossomal 18S.

Espécie	Número de sequências
<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>	1
<i>Cryptaphelenchus varicaudatus</i>	1
<i>Ektaphelenchus oleae</i>	1
<i>Laimaphelenchus suberensis</i>	2
<i>Pseudaphelenchus scheffrahnii</i>	1
<i>Pseudaphelenchus sui</i>	1
<i>Sheraphelenchus entomophagus</i>	1

5.1.2. Gene 28S

Os primeiros dados foram obtidos no ano de 2015, com 603 sequências para o gene 28S. Após três anos, os dados foram atualizados, com a introdução de 38 novas sequências em nove dos 18 gêneros da família Aphelenchoididae (Tabela 4), das quais cinco para o gênero *Aphelenchoides*, 13 para *Bursaphelenchus*, uma para *Cryptaphelenchus*, uma para *Ektaphelenchus*, quatro para *Ficophagus*, três para *Laimaphelenchus*, sete para *Martininema*, duas para *Pseudaphelenchus* e duas para *Sheraphelenchus* (Tabela 5).

Tabela 4 - Relação do número de sequências obtidas do NCBI para cada gênero da família Aphelenchoididae no ano de 2015 (LIMA, 2017), e, posteriormente, no ano de 2018 para o gene ribossomal 28S.

Gênero	Sequências (2015)	Sequências (2018)
<i>Anomyctus</i>	-	-
<i>Aphelenchoides</i>	186	191
<i>Basilaphelenchus</i>	0	5
<i>Bursaphelenchus</i>	272	285
<i>Cryptaphelenchus</i>	3	4

Continua

Tabela 4 - Relação do número de sequências obtidas do NCBI para cada gênero da família Aphelenchoididae no ano de 2015 (LIMA, 2017), e, posteriormente, no ano de 2018 para o gene ribossomal 28S.

Gênero	Sequências (2015)	Sequências (2018)
<i>Devibursaphelenchus</i>	10	10
<i>Ektaphelenchoides</i>	12	12
<i>Ektaphelenchus</i>	5	6
<i>Ficophagus</i>	1	5
<i>Laimaphelenchus</i>	10	13
<i>Martininema</i>	1	8
<i>Noctuidonema</i>	1	1
<i>Peraphelenchus</i>	1	1
<i>Pseudaphelenchus</i>	5	7
<i>Robustodorus</i>	1	1
<i>Ruehmaphelenchus</i>	3	3
<i>Schistonchus</i>	83	83
<i>Sheraphelenchus</i>	6	8
Total	603	646

Tabela 5 - Número de sequências adicionadas no banco de dados GenBank entre os anos de 2015 e 2018 para as espécies correspondentes da família Aphelenchoididae para o gene ribossomal 28S.

Espécie	Número de sequências
<i>Aphelenchoides besseyi</i>	1
<i>Aphelenchoides fragariae</i>	1
<i>Aphelenchoides parietinus</i>	2
<i>Aphelenchoides stammeri</i>	1
<i>Basilaphelenchus</i> spp.	0
<i>Bursaphelenchus antoniae</i>	12

Continua

Tabela 5 - Número de sequências adicionadas no banco de dados GenBank entre os anos de 2015 e 2018 para as espécies correspondentes da família Aphelenchoidea para o gene ribossomal 28S.

Espécie	Número de sequências
<i>Bursaphelenchus tokyoensis</i>	1
<i>Cryptaphelenchus varicaudatus</i>	1
<i>Ektaphelenchus oleae</i>	1
<i>Ficophagus cf. centerae</i>	2
<i>Ficophagus fleckeri</i>	2
<i>Laimaphelenchus suberensis</i>	3
<i>Martininema baculum</i>	7
<i>Pseudaphelenchus scheffrahnii</i>	1
<i>Pseudaphelenchus sui</i>	1
<i>Sheraphelenchus entomophagus</i>	2

5.1.3. Gene COI

Os primeiros dados foram obtidos no ano de 2015, com 258 sequências para o gene COI. Após três anos, os dados foram atualizados, com a introdução de 28 novas sequências em oito dos 18 gêneros da família Aphelenchoidea (Tabela 6), das quais cinco para o gênero *Aphelenchoides*, nove para *Ficophagus*, cinco para *Laimaphelenchus*, três para *Martininema*, duas para *Pseudaphelenchus*, uma para *Robustodorus*, uma para *Ruehmaphelenchus* e duas para *Sheraphelenchus* (Tabela 7).

Tabela 6 - Relação do número de sequências obtidas do NCBI para cada gênero da família Aphelenchoidea no ano de 2015 (LIMA, 2017), e, posteriormente, no ano de 2018 para o gene mitocondrial COI.

Gênero	Sequências (2015)	Sequências (2018)
<i>Anomyctus</i>	-	-
<i>Aphelenchoides</i>	60	65
<i>Basilaphelenchus</i>	-	-

Continua

Tabela 6 - Relação do número de sequências obtidas do NCBI para cada gênero da família Aphelenchoidea no ano de 2015 (LIMA, 2017), e, posteriormente, no ano de 2018 para o gene mitocondrial COI.

Gênero	Sequências (2015)	Sequências (2018)
<i>Bursaphelenchus</i>	123	123
<i>Cryptaphelenchus</i>	-	-
<i>Devibursaphelenchus</i>	2	2
<i>Ektaphelenchoides</i>	1	1
<i>Ektaphelenchus</i>	2	2
<i>Ficophagus</i>	-	9
<i>Laimaphelenchus</i>	2	7
<i>Martininema</i>	-	3
<i>Noctuidonema</i>	-	-
<i>Peraphelenchus</i>	-	-
<i>Pseudaphelenchus</i>	-	2
<i>Robustodorus</i>	-	1
<i>Ruehmaphelenchus</i>	1	2
<i>Schistonchus</i>	66	66
<i>Sheraphelenchus</i>	1	3
Total	258	286

Tabela 7 - Número de sequências adicionadas no banco de dados GenBank entre os anos de 2015 e 2018 para as espécies correspondentes da família Aphelenchoidea para o gene mitocondrial COI.

Espécie	Número de sequências
<i>Aphelenchoides besseyi</i>	5
<i>Ficophagus cf. centerae</i>	3
<i>Ficophagus fleckeri</i>	6
<i>Laimaphelenchus suberensis</i>	5

Continua

Tabela 7 - Número de sequências adicionadas no banco de dados GenBank entre os anos de 2015 e 2018 para as espécies correspondentes da família Aphelenchoididae para o gene mitocondrial COI.

Espécie	Número de sequências
<i>Martininema baculum</i>	3
<i>Pseudaphelenchus scheffrahnii</i>	1
<i>Pseudaphelenchus sui</i>	1
<i>Robustodorus arachidis</i>	1
<i>Ruehmaphelenchus juliae</i>	1
<i>Sheraphelenchus entomophagus</i>	2
Total	28

5.1.4. Região ITS

Os primeiros dados foram obtidos no ano de 2015, com 517 sequências para a região ITS. Após três anos, os dados foram atualizados, com a introdução de 49 novas sequências em quatro dos 18 gêneros da família Aphelenchoididae (Tabela 8), das quais 16 para o gênero *Aphelenchoides*, uma para *Basilaphelenchus*, 31 para *Bursaphelenchus*, uma para *Robustodorus* e uma para *Ruehmaphelenchus* (Tabela 9).

Tabela 8 - Relação do número de sequências obtidas do NCBI para cada gênero da família Aphelenchoididae no ano de 2015 (LIMA, 2017), e, posteriormente, no ano de 2018 para a região ribossomal ITS.

Gênero	Sequências (2015)	Sequências (2018)
<i>Anomyctus</i>	-	-
<i>Aphelenchoides</i>	40	56
<i>Basilaphelenchus</i>	-	1
<i>Bursaphelenchus</i>	453	484

Continua

Tabela 8 - Relação do número de sequências obtidas do NCBI para cada gênero da família Aphelenchoididae no ano de 2015 (LIMA, 2017), e, posteriormente, no ano de 2018 para a região ribossomal ITS.

Gênero	Sequências (2015)	Sequências (2018)
<i>Cryptaphelenchus</i>	-	-
<i>Devibursaphelenchus</i>	7	7
<i>Ektaphelenchoides</i>	3	3
<i>Ektaphelenchus</i>	3	3
<i>Ficophagus</i>	-	-
<i>Laimaphelenchus</i>	1	1
<i>Martininema</i>	-	-
<i>Noctuidonema</i>	-	-
<i>Peraphelenchus</i>	-	-
<i>Pseudaphelenchus</i>	-	-
<i>Robustodorus</i>	3	4
<i>Ruehmaphelenchus</i>	4	5
<i>Schistonchus</i>	-	-
<i>Sheraphelenchus</i>	3	3
Total	517	566

Tabela 9 - Número de sequências adicionadas no banco de dados GenBank entre os anos de 2015 e 2018 para as espécies correspondentes da família Aphelenchoididae para a região ribossomal ITS.

Espécie	Número de sequências
<i>Aphelenchoides bicaudatus</i>	3
<i>Aphelenchoides besseyi</i>	13
<i>Basilaphelenchus</i> spp.	0

Continua

Tabela 9 - Número de sequências adicionadas no banco de dados GenBank entre os anos de 2015 e 2018 para as espécies correspondentes da família Aphelenchoididae para a região ribossomal ITS.

Espécie	Número de sequências
<i>Bursaphelenchus eucarpus</i>	1
<i>Bursaphelenchus ratzeburgii</i>	3
<i>Bursaphelenchus sinensis</i>	1
<i>Bursaphelenchus tokyoensis</i>	2
<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>	24
<i>Robustodorus arachidis</i>	1
<i>Ruehmaphelenchus juliae</i>	1
Total	49

5.2. IDENTIFICAÇÃO DE ERROS EM SEQUÊNCIAS BIOLÓGICAS

Erros de anotação nas sequências depositadas em gêneros diferentes foram encontrados para a família Aphelenchoididae, pelo qual vem sendo alvo de críticas o uso do GenBank na identificação molecular pelo uso direto do Blast, estes erros de anotação podendo ser por falhas na identificação, ou por sinonímias ou por falta de atualização das mudanças nas posições taxonômicas. As cinco sequências detectadas eram sinonímias, por isso estavam sendo nomeadas com o nome de outras espécies de outros gêneros da mesma família (0,20%): *Aphelenchoides heidelbergi* estava como *Laimaphelenchus heidelbergi*, *Devibursaphelenchus hunanensis* como *B. hunanensis*, *Devibursaphelenchus lini* como *B. lini*, *Ficophagus centerae* como *Schistonchus centerae* e *Martininema baculum* como *Schistonchus baculum*. Entretanto, no banco de dados, deveria ser adotada a anotação única para não ocorrer duas formas diferentes de anotação para a classificação, ao ser usado o Blast por pessoas não familiarizadas na identificação molecular ou provocar com discussões dicotômicas na interpretação de árvores filogenéticas.

Um outro erro de anotação detectado foi que algumas sequências anotadas, dentro de uma espécie conhecida, possuíam a nomenclatura “sp.” de não identificada ao nível de

espécie. Isso ocorreu quatro vezes (0,16%); uma sequência de *Aphelenchoides paradalianensis* (HQ454505), uma de *B. chengi* (EU384702) e uma de *B. gillanii* (KC347020) da região ITS, e com uma de *Bursaphelenchus koreanus* do gene 28S (JX154584). No caso de *B. gillanii* este problema é mais relevante, porque é a sequência única depositada na espécie.

Erros no sequenciamento foram detectadas em quatro sequências (0,16%), denominadas como sequências ruins, três para o gene 18S (0,12%), uma da espécie *Bursaphelenchus arthuri* (AM397010;), uma de *Bursaphelenchus singaporensis* (AM397018) e uma de *Pseudaphelenchus yukiae* (AB470971); e uma para o 28S (0,04%) da espécie *Aphelenchoides subtenuis* (KX356781).

Três sequências curtas também foram detectadas sendo uma pertencente à espécie *Ektaphelenchoides fuchsi* do gene 28S (0,04%) (JQ446375) e duas a *Ficophagus cf. centerae* (0,08%) (LC208757 e LC208758).

Sequências invertidas forem encontradas no gene 28S (0,08%), uma para a espécie *Aphelenchoides subtenuis* (KX356782) e uma de *Bursaphelenchus sycophilus* (AB901290).

Uma sequência quimera (com partes de outros organismos) foi encontrada em *Bursaphelenchus abruptus* (AB067756) para a região ITS (0,04%). Além da região com nucleotídeos pertencentes ao nematoide *Bursaphelenchus abruptus*, também foram identificadas regiões de espécies fungo (*Nannizzia gypsea*), bactérias (*Leucobacter triazinivorans*, *Aerococcus viridans* e *Ruegeria pomeroyi*) e ainda contava com partes de peixe (*Cottoperca gobio*) e roedor (*Fukomys damarensis*).

Outro problema bastante recorrente entre as sequências biológicas, é a obtenção de sequências não identificadas a nível de espécie, as “sp.”, quando elas pertencem molecularmente a uma espécie. Das 2463 sequências obtidas dos genes 18S, 28S e COI, e da região ITS para a família Aphelenchoididae, 635 não estavam anotadas ao nível de espécie (25,78%). No entanto, com o auxílio do servidor ABGD, determinou-se a possível espécie correta de algumas destas sequências, por meio da formação de grupos.

Para o gene 18S, foram identificadas 18 sequências à nível de espécie, oito para o gênero *Aphelenchoides*, sendo três para a espécie *A. besseyi*, duas para *A. fujianensis*, duas para *A. fragariae* e uma para *A. subtenuis*; e dez para o gênero *Bursaphelenchus*, três para *B. hofmanni*, uma para *B. rainulfi*, uma para *B. sexdentati* e cinco para *B. chengi* (Tabela 10).

Tabela 10 - Identificação de espécies de sequências não identificadas a nível de espécie (sp.) pertencentes ao gene ribossomal 18S da família Aphelenchoididae.

Código	Anotação	Nova anotação
KX856351.1	<i>Aphelenchoides sp.</i>	<i>Aphelenchoides besseyi</i>
GU337994.1	<i>Aphelenchoides sp.</i>	<i>Aphelenchoides besseyi</i>
GU337995.1	<i>Aphelenchoides sp.</i>	<i>Aphelenchoides besseyi</i>
FJ040409.1	<i>Aphelenchoides sp.</i>	<i>Aphelenchoides fragariae</i>
FJ040410.1	<i>Aphelenchoides sp.</i>	<i>Aphelenchoides fragariae</i>
KX356737.1	<i>Aphelenchoides sp.</i>	<i>Aphelenchoides fujianensis</i>
KX356738.1	<i>Aphelenchoides sp.</i>	<i>Aphelenchoides fujianensis</i>
KP264116.1	<i>Aphelenchoides sp.</i>	<i>Aphelenchoides subtenuis</i>
AB849465.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus chengi</i>
AB849466.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus chengi</i>
AB849467.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus chengi</i>
AB849468.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus chengi</i>
AB849469.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus chengi</i>
AY284649.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus hofmanni</i>
AF037369.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus hofmanni</i>
AY284650.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus hofmanni</i>
AB630980.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus rainulfi</i>
KF164829.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus sexdentati</i>

Para o gene 28S, foram identificadas 11 sequências à nível de espécie, dez para o gênero *Bursaphelenchus*, sendo cinco para *B. hylobianum*, três para *B. hofmanni* e duas para *B. sexdentati*. Além disso, foi identificada uma espécie pertencente ao gênero *Cryptaphelenchus*, denominada de *Cryptaphelenchus varicaudatus* (Tabela 11).

Tabela 11 - Identificação de espécies de sequências não identificadas a nível de espécie (sp.) pertencentes ao gene ribossomal 28S da família Aphelenchoididae.

Código	Anotação	Nova anotação
KX356797.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus hofmanni</i>
KX356798.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus hofmanni</i>
KX356801.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus hofmanni</i>
AB849475.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus hylobianum</i>
AB849476.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus hylobianum</i>
AB849477.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus hylobianum</i>
AB849478.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus hylobianum</i>
AB849479.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus hylobianum</i>
KF164832.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus sexdentati</i>
KF164833.1	<i>Bursaphelenchus sp.</i>	<i>Bursaphelenchus sexdentati</i>
AB597985.1	<i>Cryptaphelenchus sp.</i>	<i>Cryptaphelenchus varicaudatus</i>

Para o gene COI, foi identificada apenas uma sequência a nível de espécie para o gênero *Aphelenchoides*. A identificação ocorreu para a espécie *A. fujianensis* (código: GU367868.1). Para a região ITS, no entanto, não foi possível identificar nenhuma das sequências “sp.” à nível de espécie.

5.3. ATUALIZAÇÃO DOS PADRÕES MOLECULARES

Após a atualização de dados e utilizando os padrões moleculares obtidos anteriormente (LIMA, 2017), foram obtidos, através de árvores filogenéticas: para o gene 18S, 91 padrões com apenas uma sequência (81,25%), 10 com duas sequências (8,93%) e 11 consensos (9,82%)(Anexo 1); Para o gene 28S, 90 padrões com uma sequência (70,45%), 13 com duas sequências (9,85%) e 26 consensos (19,70%)(Anexo 2); Para o gene COI, 60 padrões com uma sequência (74,07%), sete com duas sequências (8,64%) e 14 consensos (17,28%) (Anexo 3); e para a região ITS, 50 padrões com apenas uma sequência (52,08%); 19 com duas sequências (19,79%) e 27 consensos (28,12%) (Anexo 4).

5.4. DETERMINAÇÃO DO TAMANHO DOS AMPLICONS PARA OS PADRÕES MOLECULARES

A divergência entre os tamanhos dos amplicons ocorreu para todos os gêneros da família Aphelenchoididae para os genes 18S, 28S e para a região ITS. No entanto, para o gene mitocondrial COI, não ocorreu para os seguintes gêneros: *Ektaphelenchoides*, *Ektaphelenchus*, *Ficophagus*, *Pseudaphelenchus*, *Robustodorus*, *Ruehmaphelenchus* e *Sheraphelenchus*, que permaneceram com tamanho de amplicon igual a 657 pb. Demonstrando, dessa forma, que esse gene possui uma maior estabilidade entre seus gêneros quando comparado aos demais genes estudados, o qual deve ocorrer porque o gene COI encontra-se no genoma mitocondrial, onde não há sistema de reparo, levando a alterações de ponto, mas não ocorre recombinação, como nos genes nucleares.

A diferenciação total por gêneros, com maior robustez, ocorreu para o gênero *Laimaphelenchus* do gene ribossomal COI, com comprimento médio dos amplicons de 561 pb, variando de 549 pb a 572 pb.

Quando determinados os tamanhos das subunidades da região ITS, pode-se constatar a formação de mais grupos de sequências, principalmente para as subunidades ITS1 e ITS2. Demonstrando que essas regiões podem ser utilizadas para uma identificação mais específica quando comparada ao tamanho total da região. A subunidade 5.8S não variou muito nas espécies estudadas.

5.2.1. Gene 18S

O tamanho dos amplicons do gene 18S nos padrões moleculares obtidos determinou uma diferenciação entre os gêneros utilizados da família Aphelenchoididae. A média do tamanho para o gênero *Aphelenchoides* foi de 807 pb, com uma variação de 715 pb a 840 pb; 825 pb para o gênero *Bursaphelenchus*, com variação de 791 pb a 840 pb; 834 pb para o gênero *Devibursaphelenchus*, com variação de 831 pb a 838 pb; 831 pb para *Ektaphelenchoides*, com variação de 828 pb a 833 pb; 832 pb para o gênero *Ektaphelenchus*, com variação de 829 pb a 834 pb; 793 pb para o gênero *Laimaphelenchus*, com variação de 667 pb a 828 pb; 811 pb para *Peraphelenchus*, variando de 778 pb a 832 pb; 943 pb para *Pseudaphelenchus*, variando de 941 pb a 944 pb; 825 pb para o gênero *Ruehmaphelenchus*, com variação de 824 pb a 826 pb; 799 pb para o gênero *Schistonchus*,

com variação de 775 pb a 848 pb; e 820 pb para o gênero *Sheraphelenchus*, com variação de 817 pb a 822 pb (Tabela 12).

Alguns gêneros estudados apresentaram apenas um padrão molecular com dados confiáveis para a realização do trabalho, impossibilitando a realização de médias e a observação da variação de tamanho entre os padrões. Isso ocorreu para os seguintes gêneros: *Anomyctus*, que apresentou um padrão molecular com 834 pb; *Cryptaphelenchus*, com 821 pb; *Ficophagus*, com 775 pb; e *Robustodorus*, com 821 pb (Tabela 12).

A diferenciação por tamanho a nível de espécie ocorreu para as seguintes espécies: do gênero *Aphelenchoides* (*A. blastophthorus* consenso 1, *A. cf. parietinus*, *A. fragariae* consenso, *L. heidelbergi*, *A. macronucleatus*, *A. stammeri*, *A. subtenuis* consenso e *A. xui*), *Bursaphelenchus* (*B. mucronatus* consenso), *Devibursaphelenchus* (*D. lini* e *D. eproctatus*), *Ektaphelenchoides* (*E. spondylis*), *Laimaphelenchus* (*L. belgradiensis* e *L. suberensis*), *Peraphelenchus* (*P. orientalis*), *Pseudaphelenchus* (*P. sui*), *Schistonchus* (*S. aureus*, *S. benjamina* 1, *S. benjamina* 2, *S. benjamina* 5 e *S. caprifici* consenso) e *Sheraphelenchus* (*S. entomophagus*) (Anexo 5).

Tabela 12 - Tamanho médio ou único, mínimo e máximo dos amplicons dos padrões moleculares dos gêneros pertencentes ao gene ribossomal 18S da família Aphelenchoididae.

Gênero	Tamanho médio/único (pb)	Tamanho mínimo (pb)	Tamanho máximo (pb)
<i>Anomyctus</i>	834	-	-
<i>Aphelenchoides</i>	807	715	840
<i>Bursaphelenchus</i>	825	791	840
<i>Devibursaphelenchus</i>	834	831	838
<i>Cryptaphelenchus</i>	821	-	-

Continua

Tabela 12 - Tamanho médio ou único, mínimo e máximo dos amplicons dos padrões moleculares dos gêneros pertencentes ao gene ribossomal 18S da família Aphelenchoididae.

Gênero	Tamanho médio/único (pb)	Tamanho mínimo (pb)	Tamanho máximo (pb)
<i>Ektaphelenchoides</i>	833	-	-
<i>Ektaphelenchus</i>	832	829	834
<i>Ficophagus</i>	775	-	-
<i>Laimaphelenchus</i>	793	667	828
<i>Peraphelenchus</i>	811	778	832
<i>Pseudaphelenchus</i>	800	778	822
<i>Robustodoris</i>	821	-	-
<i>Ruehmaphelenchus</i>	825	824	826
<i>Schistonchus</i>	799	775	848
<i>Sheraphelenchus</i>	820	817	822

Para o gênero *Aphelenchoides*, a máxima diferença entre os seis padrões mais consistentes do gênero (consensos) ocorreu entre *A. funjianensis* e *A. bicaudatus*, com 287 nucleotídeos, enquanto que a menor diferença foi entre *A. blastophthorus* e *A. fragariae* com 63 nucleotídeos (Anexo 5). Para o gênero *Bursaphelenchus*, a máxima diferença entre os padrões mais consistentes ocorreu entre *B. rainulfi* e *B. xylophilus*, ambos com 108 nucleotídeos, e a diferença mínima foi entre *B. mucronatus* e *B. xylophilus*, com 2 nucleotídeos (Anexo 5). Para o gênero *Schistonchus*, não foi possível comparar por falta de padrões, além disso, as sequências que formam o consenso não apresentaram diferença quando comparadas ao consenso.

5.2.2. Gene 28S

A média de tamanho dos amplicons para o gênero *Aphelenchoides* foi de 731 pb, com variação de 649 pb a 755 pb; 732 pb para o *Bursaphelenchus*, variando de 616 pb a 779 pb; 755 pb para *Devibursaphelenchus*, alternando de 741 pb a 800 pb; 720 para *Ektaphelenchoides*, variando de 631 pb a 794 pb; 758 para *Ektaphelenchus*, variando de

752 pb a 828 pb; *Laimaphelenchus*, variando de 704 pb a 765 pb; *Pseudaphelenchus*, variando de 663 pb a 822 pb; e 731 para *Schistonchus*, com variação de 733 pb a 813 pb (Tabela 13).

No entanto, alguns gêneros apresentaram apenas um padrão molecular com dados confiáveis para a realização do trabalho, impossibilitando a realização de médias e a observação da variação de tamanho entre os padrões. Isso ocorreu para *Sheraphelenchus*, com um padrão de 736 pb; *Ficophagus flickeri*, com 747 pb; e *Martininema baculum*, com 728 pb (Tabela 13).

A diferenciação por tamanho a nível de espécie ocorreu para as seguintes espécies: do gênero *Aphelenchoides* (*A. fragariae* consenso, *A. fujianensis*, *L. heidelbergi*, *A. iranicus*, e *A. xylocopae*), *Bursaphelenchus* (*B. anatolius*, *B. arthuri*, *B. fraudulentus* consenso, *B. kevinci*, *B. mazandaranense*, *B. obeche*, *B. paraburgeri*, *B. parathailandae* e *B. tokyonensis*), *Devibursaphelenchus* (*D. lini*, *D. kheirii* e *D. wangi*), *Ektaphelenchoides* (*E. caspiensis*, *E. fuchsi*, *E. hunti*, *E. kelardashtensis*, *E. pini*, *E. poinari* e *E. ruehmi*), *Ektaphelenchus* (*E. obtusus* e *E. taiwanensis*), *Laimaphelenchus* (*L. australis*, *L. belgradiensis* e *L. suberensis*), *Martininema* (*M. baculum*), *Pseudaphelenchus* (*P. sui* e *P. yukiae*), *Ruehmaphelenchus* (*R. asiaticus* e *R. digitulus*), *Schistonchus* (*S. caprifici* consenso, *S. guangzhouensis* e *S. hirtus*) e *Sheraphelenchus entomophagus* (Anexo 6).

Tabela 13 - Tamanho médio ou único, mínimo e máximo dos amplicons dos padrões moleculares dos gêneros pertencentes ao gene ribossomal 28S da família Aphelenchoididae.

Gênero	Tamanho médio/único (pb)	Tamanho mínimo (pb)	Tamanho máximo (pb)
<i>Aphelenchoides</i>	731	661	874
<i>Bursaphelenchus</i>	732	616	780
<i>Devibursaphelenchus</i>	755	741	800
<i>Ektaphelenchoides</i>	720	631	794
<i>Ektaphelenchus</i>	758	752	764

Continua

Tabela 13 - Tamanho médio ou único, mínimo e máximo dos amplicons dos padrões moleculares dos gêneros pertencentes ao gene ribossomal 28S da família Aphelenchoidea.

Gênero	Tamanho médio/único (pb)	Tamanho mínimo (pb)	Tamanho máximo (pb)
<i>Ficophagus</i>	747	-	-
<i>Laimaphelenchus</i>	731	713	743
<i>Martininema</i>	728	-	-
<i>Pseudaphelenchus</i>	800	778	822
<i>Ruehmaphelenchus</i>	707	705	708
<i>Schistonchus</i>	731	733	813
<i>Sheraphelenchus</i>	760	-	-

Para o gênero *Aphelenchoidea*, a máxima diferença entre os sete padrões mais consistentes do gênero (consensos) ocorreu entre *A. heidelbergi* e *A. ritzemabosi* consenso 2, com 177 nucleotídeos, e a menor diferença foi entre *A. fragariae* e *A. ritzemabosi* consenso 1, com 10 nucleotídeos (Anexo 6). Para o gênero *Bursaphelenchus*, a máxima diferença entre os 14 consensos ocorreu entre *B. fraudulentus* e *B. thailandae*, com 188 nucleotídeos, e a menor diferença foi entre *B. mucronatus* consenso 2 e *B. xylophilus*, com 10 nucleotídeos (Anexo 6). Para os gêneros *Martininema*, *Schistonchus* e *Sheraphelenchus*, não foi possível comparar por falta de padrões.

5.2.3. Gene COI

A média de tamanho do amplicon para o gênero *Aphelenchoidea* foi de 645 pb, com variação de 603 pb a 673 pb; 630 pb para *Bursaphelenchus*, variando de 591 pb a 658 pb; 657 pb para *Ficophagus*, variando de 657 pb a 657 pb; 561 para *Laimaphelenchus*, variando de 549 pb a 572 pb; 657 pb para *Pseudaphelenchus*, com todos os padrões com 657 pb; 657 pb para *Ruehmaphelenchus*, com todos os padrões com 657 pb; e 624 pb para *Schistonchus*, alternando de 591 pb a 657 pb (Tabela 14).

Alguns gêneros estudados apresentaram apenas um padrão molecular com dados confiáveis para a realização do trabalho, impossibilitando a realização de médias e a observação da variação de tamanho entre os padrões. Isso ocorreu para os seguintes gêneros: *Devibursaphelenchus*, que apresentou um padrão molecular com 641 pb, *Martininema*, com 728 pb, *Ektaphelenchoides*, *Ektaphelenchus*, *Robustodorus* e *Sheraphelenchus* com 657 pb (Tabela 14).

A diferenciação por tamanho a nível de espécie ocorreu para as seguintes espécies: para o gênero *Aphelenchoides* (*A. besseyi*, *A. besseyi* 1, *A. besseyi* 2, *A. fujianensis* consenso 1 e *A. fujianensis* consenso 2), *Bursaphelenchus* (*B. parathailandae*), *Devibursaphelenchus* (*D. eproctatus*) e *Laimaphelenchus* (*L. belgradiensis* e *L. preissii*) (Anexo 7).

Tabela 14 - Tamanho médio ou único, mínimo e máximo dos amplicons dos padrões moleculares dos gêneros pertencentes ao gene mitocondrial COI da família Aphelenchoididae.

Gênero	Tamanho médio/único (pb)	Tamanho mínimo (pb)	Tamanho máximo (pb)
<i>Aphelenchoides</i>	645	603	673
<i>Bursaphelenchus</i>	630	591	658
<i>Devibursaphelenchus</i>	641	-	-
<i>Ektaphelenchoides</i>	657	-	-
<i>Ektaphelenchus</i>	657	-	-
<i>Ficophagus</i>	657	657	657
<i>Laimaphelenchus</i>	561	549	572
<i>Martininema</i>	728	-	-
<i>Pseudaphelenchus</i>	657	657	657
<i>Robustodorus</i>	657	-	-
<i>Ruehmaphelenchus</i>	657	657	657
<i>Schistonchus</i>	624	591	657
<i>Sheraphelenchus</i>	657	-	-

Para o gênero *Aphelenchoides*, a máxima diferença entre os cinco padrões mais consistentes do gênero (consensos) ocorreu entre *A. besseyi* consenso 1 e *A. subtenuis*, com 130 nucleotídeos, e a menor diferença foi entre *A. fujianensis* consenso 1 e *A. fujianensis* consenso 2, com 82 nucleotídeos (Anexo 7). Para o gênero *Bursaphelenchus*, a máxima diferença entre os seis padrões consensos ocorreu entre *B. debrae* e *B. seani*, com 93 nucleotídeos, e a menor diferença foi entre *B. mucronatus* consenso 1 e *B. mucronatus* consenso 2, com 35 nucleotídeos (Anexo 7). Para o gênero *Schistonchus*, não foi possível comparar por falta de padrões.

5.2.3. Região ITS

Para a região ITS, foi possível determinar a diferenciação em função do tamanho das subunidades ITS1, 5.8S e ITS2 entre os gêneros estudados, interferindo diretamente no comprimento total da região ITS. Dessa forma, a média de tamanho total para o gênero *Aphelenchoides* foi de 655 pb, com variação de 589 pb a 747 pb; 833 pb para *Bursaphelenchus*, variando de 667 pb a 1110 pb; 899 para *Devibursaphelenchus*, variando de 776 pb a 1154 pb; 899 para *Ektaphelenchoides*, variando de 762 pb a 974 pb; 660 para *Ruehmaphelenchus*, variando de 524 pb a 683 pb; e 911 para *Sheraphelenchus*, variando de 907 pb a 915 pb (Tabela 15).

Alguns gêneros estudados apresentaram apenas um padrão molecular com dados confiáveis para a realização do trabalho, impossibilitando a realização de médias e a observação da variação de tamanho entre os padrões. Isso ocorreu para os seguintes gêneros: *Ektaphelenchus*, que apresentou um padrão molecular com 830 pb; *Laimaphelenchus*, com 629 pb; e *Robustodorus*, com 840 pb (Tabela 15).

Houve diferenciação, por tamanho, em todas os padrões moleculares da família Aphelenchoididae para essa região, levando em consideração todas as subunidades constituintes (ITS1, 5.8S e ITS2) e o comprimento total (Anexo 8).

Tabela 15 - Tamanho médio ou único das subunidades ITS1, 5.8S e ITS2, e Tamanho médio ou único, mínimo e máximo do comprimento total dos padrões moleculares dos gêneros pertencentes à região ribossomal ITS da família Aphelenchoidea.

Gênero	ITS 1 (pb)	5.8S (pb)	ITS 2 (pb)	Total (pb)	Tamanho mínimo (pb)	Tamanho máximo (pb)
<i>Aphelenchoidea</i>	272	160	219	651	589	747
<i>Bursaphelenchus</i>	318	160	359	837	667	1110
<i>Devibursaphelenchus</i>	281	160	449	890	776	1154
<i>Ektaphelenchoidea</i>	298	160	326	899	762	974
<i>Ektaphelenchus</i>	264	160	406	830	-	-
<i>Laimaphelenchus</i>	257	159	213	629	-	-
<i>Robustodorus</i>	299	161	161	840	-	-
<i>Ruehmaphelenchus</i>	203	160	248	611	524	683
<i>Sheraphelenchus</i>	364	159	389	911	907	915

Para *Aphelenchoidea*, a máxima diferença entre os três padrões mais consistentes do gênero (consensos) ocorreu entre *A. besseyi* e *A. ritzemabosi*, com 78 nucleotídeos, e a menor diferença foi entre *A. fragariae* e *A. ritzemabosi*, com 29 nucleotídeos (Anexo 8). Para *Bursaphelenchus*, a máxima diferença ocorreu entre os consensos do gênero ocorreu entre *B. doui* e *B. mucronatus* consenso 1, com 227 nucleotídeos, e a menor diferença foi entre *B. corneolus* e *B. fraudulentus*, e *B. mucronatus* consenso 2 e *B. sexdentati* consenso 2, ambos com 17 nucleotídeos (Anexo 8). Para o gênero *Robustodorus*, não foi possível comparar por falta de padrões.

A diferenciação do tamanho total dos amplicons da região ITS ocorreu mediante a utilização de primers, como os demais genes estudados. A média de tamanho para o gênero *Aphelenchoidea* foi de 795 pb, com variação de 706 pb a 880 pb; 896 pb para *Bursaphelenchus*, variando de 615 pb a 1174 pb; 883 para *Devibursaphelenchus*, variando de 840 pb a 944 pb; 939 pb para *Ektaphelenchoidea*, variando de 863 pb a 1015

pb; 701 pb para *Ruehmaphelenchus*, variando de 663 pb a 749 pb; e 988 pb para *Sheraphelenchus*, alternando de 982 pb a 994 pb (Tabela 16).

Alguns gêneros estudados apresentaram apenas um padrão molecular com dados confiáveis para a realização do trabalho, impossibilitando a realização de médias e a observação da variação de tamanho entre os padrões. Isso ocorreu para os seguintes gêneros: *Ektaphelenchus*, que apresentou um padrão molecular com 894 pb, *Laimaphelenchus*, com 969 pb e *Robustodorus* com 778 pb (Tabela 16).

A diferenciação por tamanho a nível de espécie ocorreu para as seguintes espécies: para todas as espécies dos gêneros *Aphelenchoides*, *Devibursaphelenchus*, *Ektaphelenchoides*, *Ruehmaphelenchus* e *Sheraphelenchus*.

Em *Busaphelenchus* ocorreu diferenciação para a maioria das espécies, menos para *B. eggersi*, *B. mucronatus* consenso 1, *B. mucronatus* consenso 2, *B. tusciae*, *B. paraluxuriosae*, *B. seani*, *B. parvispicularis*, *B. populi*, *B. borealis* 1, *B. borealis* 2, *B. doui*, *B. sexdentati* 1, *B. sexdentati* 2, *B. vallesianus* 1, *B. vallesianus* 2, *B. cocophilus*, *B. hyllobianum* e *B. platzeri*; (Anexo 9).

Tabela 16 - Tamanho médio ou único, variação mínima e variação máxima dos amplicons dos padrões moleculares dos gêneros pertencentes à região ribossomal ITS da família Aphelenchoididae.

Gênero	Tamanho médio/único (pb)	Tamanho mínimo (pb)	Tamanho máximo(pb)
<i>Aphelenchoides</i>	795	706	880
<i>Bursaphelenchus</i>	896	615	1174
<i>Devibursaphelenchus</i>	883	840	944
<i>Ektaphelenchoides</i>	939	863	1015
<i>Ektaphelenchus</i>	894	-	-
<i>Laimaphelenchus</i>	969	-	-
<i>Robustodorus</i>	778	-	-
<i>Ruehmaphelenchus</i>	701	663	749
<i>Sheraphelenchus</i>	988	982	994

5.4. FORMAÇÃO DE PADRÕES MOLECULARES ATRAVÉS DO ABGD E IDENTIFICAÇÃO DAS VARIAÇÕES INTRAESPECÍFICA, INTERESPECÍFICA E INTERGENÉRICA.

Para a confirmação dos padrões moleculares obtidos, as sequências foram analisadas através do ABGD para a observação da formação de grupos. Infelizmente, após a análise, pode-se constatar o agrupamento das sequências não ocorre de maneira correta quando são utilizados grupos mais distantes taxonomicamente, ou seja, da mesma família, mas de gêneros diferentes. Assim, as análises utilizando o ABGD foram conduzidas usando sequências pertencentes a espécies do mesmo gênero.

Quando as sequências foram analisadas em grupos de táxons próximos houve a concordância com a utilização de árvores filogenéticas. Assim, foram obtidos, para o gene 18S, 91 padrões com apenas uma sequência (81,25%), 10 com duas sequências (8,93%) e 11 consensos (9,82%); Para o gene 28S, foram obtidos 93 padrões com um sequência (70,45%), 13 com duas sequências (9,85%) e 26 consensos (19,70%); Para o gene COI, foram obtidos 60 padrões com uma sequência (74,07%), sete com duas sequências (8,64%) e 14 consensos (17,28%); e Para a região ITS, foram obtidos 51 padrões com apenas uma sequência (52,58%); 19 com duas sequências (19,59%) e 27 consensos (27,84%).

As variações intraespecífica, interespecífica e intergenérica apresentaram variações médias esperadas, com algumas exceções, a nível de espécie, gênero e família para os genes 18S, 28S e COI. Entretanto, para a região ITS, as variações ficaram muito acima do esperado, tanto para a separação a nível de espécie quanto de gênero. Demonstrando, assim, a grande variação presente nesta região quando comparada aos demais genes filogenéticos.

5.3.1. Gene 18S

Para a variação intraespecífica, ou seja, comparando sequências da mesma espécie, foi possível determinar a variação de 14 espécies pertencentes a cinco gêneros diferentes. Para as espécies pertencentes ao gênero *Aphelenchoides*, a variação mínima foi de 0,06% e a máxima foi de 5,66%; Para as espécies de *Bursaphelenchus*, a variação mínima foi de 0,08% e máxima foi de 0,75%; Para as espécies de *Shistonchus*, a variação

mínima foi de 0,06% e a máxima foi de 8,19%. A espécie *Laimaphelenchus penardi* apresentou variação de 2,45% a 3,19% e *Sheraphelenchus entomophagus*, variação de 1,50% a 2,11% (Tabela 17).

Tabela 17 - Variação de dissimilaridade intraespecífica média, mínima e máxima das espécies da família Aphelenchoididae do gene ribossomal 18S.

Espécie	Variação Intraespecífica		
	Média	Mínimo	Máximo
<i>Aphelenchoides besseyi</i>	0,13%	0,06%	0,20%
<i>Aphelenchoides bicaudatus</i>	2,00%	0,11%	4,97%
<i>Aphelenchoides blastophthorus</i>	3,54%	0,79%	5,66%
<i>Aphelenchoides fragariae</i>	1,38%	0,06%	3,13%
<i>Aphelenchoides fujianensis</i>	0,55%	0,06%	2,12%
<i>Bursaphelenchus corneolus</i>	0,29%	0,23%	0,35%
<i>Bursaphelenchus hofmanni</i>	0,40%	0,06%	0,75%
<i>Bursaphelenchus mucronatus</i>	0,08%	0,06%	0,12%
<i>Bursaphelenchus rainulfi</i>	0,19%	0,06%	0,26%
<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>	0,15%	0,06%	0,37%
<i>Laimaphelenchus penardi</i>	2,45%	1,06%	3,19%
<i>Schistonchus caprifici</i>	0,06%	0,06%	0,06%
<i>Schistonchus benjamina</i>	5,88%	3,72%	8,19%
<i>Sheraphelenchus entomophagus</i>	1,50%	0,81%	2,11%
Geral	1,33%	0,51%	2,25%

Para a variação interespecífica, ou seja, comparando sequências das espécies pertencentes ao mesmo gênero, foi possível determinar a variação de seis gêneros. A menor variação obtida foi de 1,07% para o gênero *Bursaphelenchus* e máxima de 19,33% para o gênero *Aphelenchoides* (Tabela 18). Para a variação intergenérica, isto é, variação entre os gêneros da família Aphelenchoididae, pode-se obter uma variação mínima de 10,09%, média de 14,35% e máxima de 23,39%.

Tabela 18 - Variação de dissimilaridade interespecífica média, mínima e máxima dos gêneros da família Aphelenchoididae do gene ribossomal 18S.

Gênero	Variação Interespecífica		
	Média	Mínimo	Máximo
<i>Aphelenchoides</i>	12,06%	3,89%	19,33%
<i>Bursaphelenchus</i>	4,45%	1,07%	10,62%
<i>Devibursaphelenchus</i>	13,35%	12,56%	14,20%
<i>Ektaphelenchus</i>	12,39%	9,73%	14,71%
<i>Laimaphelenchus</i>	6,08%	4,69%	7,28%
<i>Schistonchus</i>	13,81%	5,54%	18,09%
Geral	10,36%	6,25%	14,04

5.3.2. Gene 28S

Para a variação intraespecífica, foi possível determinar a variação de 21 espécies pertencentes a 5 gêneros diferentes. Para as espécies pertencentes ao gênero *Aphelenchoides*, a variação mínima foi de 0,13% e a máxima foi de 2,53%; Para as espécies de *Bursaphelenchus*, a variação mínima foi de 0,13% e máxima foi de 2,34%; A espécie *Martininema baculum* apresentou variação de 0,41% a 0,97%, *Schistonchus caprifici* apresentou variação 0,13% a 1,41% e *Sheraphelenchus entomophagus*, variação de 0,13% a 0,32% (Tabela 19).

Tabela 19 - Variação de dissimilaridade intraespecífica média, mínima e máxima das espécies da família Aphelenchoididae do gene ribossomal 28S.

Espécie	Variação intraespecífica		
	Média	Mínimo	Máximo
<i>Aphelenchoides besseyi</i>	0,46%	0,13%	2,39%
<i>Aphelenchoides fragariae</i>	1,17%	0,18%	1,99%
<i>Aphelenchoides fujianensis</i>	0,92%	0,16%	2,53%
<i>Aphelenchoides ritzemabosi</i>	0,67%	0,13%	1,07%
<i>Bursaphelenchus antoniae</i>	0,30%	0,13%	0,94%

Continua

Tabela 19 - Variação de dissimilaridade intraespecífica média, mínima e máxima das espécies da família Aphelenchoididae do gene ribossomal 28S.

Espécie	Variação intraespecífica		
	Média	Mínimo	Máximo
<i>Bursaphelenchus cocophilus</i>	0,91%	0,15%	1,77%
<i>Bursaphelenchus corneolus</i>	0,41%	0,25%	0,57%
<i>Bursaphelenchus doui</i>	0,68%	0,25%	1,17%
<i>Bursaphelenchus fraudulentus</i>	0,14%	0,14%	0,14%
<i>Bursaphelenchus hylobianum</i>	1,22%	0,14%	1,85%
<i>Bursaphelenchus luxuriosae</i>	0,13%	0,13%	0,13%
<i>Bursaphelenchus mucronatus</i>	1,00%	0,13%	2,08%
<i>Bursaphelenchus rainulfi</i>	0,42%	0,25%	0,65%
<i>Bursaphelenchus seani</i>	0,61%	0,14%	0,84%
<i>Bursaphelenchus thailandae</i>	1,82%	0,92%	2,34%
<i>Bursaphelenchus willibaldi</i>	1,37%	0,86%	1,89%
<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>	0,62%	0,13%	1,73%
<i>Bursaphelenchus sexdentati</i>	0,21%	0,14%	0,28%
<i>Martininema baculum</i>	0,62%	0,41%	0,97%
<i>Schistonchus caprifici</i>	0,60%	0,13%	1,41%
<i>Sheraphelenchus entomophagus</i>	0,25%	0,13%	0,32%
Geral	0,69%	0,24%	1,29%

Para a variação interespecífica, foi possível determinar a variação de seis gêneros. A menor variação obtida foi de 2,07% para o gênero *Bursaphelenchus* e máxima de 38,09% para o gênero *Aphelenchoides* (Tabela 20). Para a variação intergenérica, isto é, variação entre os gêneros da família Aphelenchoididae, pode-se obter uma variação mínima de 18,46%, média de 31,09% e máxima de 63,55%.

Tabela 20 - Variação de dissimilaridade interespecífica média, mínima e máxima dos gêneros da família Aphelenchoididae do gene ribossomal 28S.

Gênero	Variação Interespecífica		
	Média	Mínimo	Máximo
<i>Aphelenchoides</i>	24,93%	3,19%	38,09%
<i>Bursaphelenchus</i>	18,50%	2,07%	29,30%
<i>Devibursaphelenchus</i>	22,36%	14,45%	26,28%
<i>Ektaphelenchoides</i>	22,06%	6,06%	30,42%
<i>Ektaphelenchus</i>	23,69%	20,91%	25,10%
<i>Ficophagus</i>	13,78%	12,07%	15,65%
<i>Laimaphelenchus</i>	19,60%	2,58%	26,12%
<i>Ruehmaphelenchus</i>	24,28%	19,33%	27,62%
<i>Schistonchus</i>	28,38%	11,45%	36,46%
Geral	21,95%	10,23%	28,34%

5.3.3. Gene COI

Para a variação intraespecífica, foi possível determinar a variação de 13 espécies pertencentes a 5 gêneros diferentes. Para as espécies pertencentes ao gênero *Aphelenchoides*, a variação mínima foi de 0,16% e a máxima foi de 1,97%; Para as espécies de *Bursaphelenchus*, a variação mínima foi de 0,14% e máxima foi de 10,99%; Para as espécies de *Ficophagus*, a variação mínima foi de 0,30% e máxima foi de 0,76%. A espécie *Martininema baculum* apresentou variação de 0,30% a 0,45%, *Schistonchus caprifici* apresentou variação 0,13% a 1,41% e *Sheraphelenchus entomophagus*, variação de 0,14% a 6,93% (Tabela 21).

Tabela 21 - Variação de dissimilaridade intraespecífica média, mínima e máxima das espécies da família Aphelenchoididae do gene mitocondrial COI.

Espécie	Variação Intraespecífica		
	Média	Mínimo	Máximo
<i>Aphelenchoides besseyi</i>	0,68%	0,16%	1,97%

Continua

Tabela 21 - Variação de dissimilaridade intraespecífica média, mínima e máxima das espécies da família Aphelenchoididae do gene mitocondrial COI.

Espécie	Variação Intraespecífica		
	Média	Mínimo	Máximo
<i>Aphelenchoides fujianensis</i>	0,33%	0,16%	0,71%
<i>Aphelenchoides subtenuis</i>	0,17%	0,17%	0,17%
<i>Bursaphelenchus debrae</i>	1,80%	1,52%	2,36%
<i>Bursaphelenchus fraudulentus</i>	1,46%	0,32%	2,07%
<i>Bursaphelenchus mucronatus</i>	0,70%	0,15%	1,31%
<i>Bursaphelenchus seani</i>	0,48%	0,32%	0,64%
<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>	2,25%	0,14%	4,93%
<i>Bursaphelenchus sexdentati</i>	8,57%	1,43%	10,99%
<i>Ficophagus cf. centerae</i>	0,45%	0,30%	0,61%
<i>Ficophagus fleckeri</i>	0,52%	0,30%	0,76%
<i>Martininema baculum</i>	0,35%	0,30%	0,45%
<i>Schistonchus caprifici</i>	2,09%	0,14%	6,93%
Geral	1,53%	0,42%	2,61%

Para a variação interespecífica, foi possível determinar a variação de seis gêneros. A menor variação obtida foi de 1,27% para o gênero *Aphelenchoides* e máxima de 35,69% para o gênero *Bursaphelenchus* (Tabela 22). Para a variação intergenérica, isto é, variação entre os gêneros da família Aphelenchoididae, pode-se obter uma variação mínima de 3,00%, média de 18,08% e máxima de 36,68%.

Tabela 22 - Variação de dissimilaridade interespecífica média, mínima e máxima dos gêneros da família Aphelenchoididae do gene ribossomal COI.

Gênero	Variação interespecífica		
	Média	Mínimo	Máximo
<i>Aphelenchoides</i>	16,86%	1,27%	30,56%
<i>Bursaphelenchus</i>	14,02%	7,74%	35,69%
<i>Ficophagus</i>	15,89%	15,58%	16,19%
<i>Schistonchus</i>	16,74%	14,19%	23,14%
Geral	15,88%	9,70%	26,40%

5.3.4. Região ITS

Para a variação intraespecífica, foi possível determinar a variação de 27 espécies pertencentes a 4 gêneros diferentes. Para as espécies pertencentes ao gênero *Aphelenchoides*, a variação mínima foi de 0,12% e a máxima foi de 24,61%; Para as espécies de *Bursaphelenchus*, a variação mínima foi de 0,10% e máxima foi de 32,53%; A espécie *Robustodorus megadorus* apresentou variação de 3,46% a 17,34% e *Sheraphelenchus entomophagus*, variação de 19,76% a 37,09% (Tabela 23).

Tabela 23 - Variação de dissimilaridade intraespecífica média, mínima e máxima das espécies da família Aphelenchoididae da região ribossomal ITS.

Espécie	Variação Intraespecífica		
	Média	Mínimo	Máximo
<i>Aphelenchoides besseyi</i>	6,03%	0,12%	11,81%
<i>Aphelenchoides fragariae</i>	5,79%	3,61%	7,40%
<i>Aphelenchoides ritzemabosi</i>	3,86%	0,13%	9,43%
<i>Aphelenchoides bicaudatus</i>	13,94%	6,46%	24,61%
<i>Bursaphelenchus borealis</i>	9,63%	0,12%	18,49%
<i>Bursaphelenchus cocophilus</i>	0,32%	0,12%	0,58%
<i>Bursaphelenchus corneolus</i>	18,12%	0,97%	26,74%
<i>Bursaphelenchus doui</i>	11,54%	3,25%	17,76%
<i>Bursaphelenchus eggersi</i>	1,91%	0,13%	9,28%
<i>Bursaphelenchus eremus</i>	2,11%	0,25%	3,27%
<i>Bursaphelenchus fraudulentus</i>	7,83%	0,10%	19,21%
<i>Bursaphelenchus fungivorus</i>	19,33%	3,18%	27,73%
<i>Bursaphelenchus hofmanni</i>	13,24%	2,90%	26,31%
<i>Bursaphelenchus luxuriosae</i>	8,12%	6,69%	9,01%
<i>Bursaphelenchus mucronatus</i>	14,88%	0,11%	28,47%
<i>Bursaphelenchus pinasteri</i>	10,93%	9,43%	11,78%
<i>Bursaphelenchus pinophilus</i>	5,11%	0,71%	7,38%
<i>Bursaphelenchus poligraphi</i>	2,58%	0,12%	6,29%

Continua

Tabela 23 - Variação de dissimilaridade intraespecífica média, mínima e máxima das espécies da família Aphelenchoididae da região ribossomal ITS.

Espécie	Variação Intraespecífica		
	Média	Mínimo	Máximo
<i>Bursaphelenchus rainulfi</i>	0,91%	0,68%	1,08%
<i>Bursaphelenchus ratzeburgii</i>	0,96%	0,56%	1,39%
<i>Bursaphelenchus sexdentati</i>	3,67%	0,10%	14,71%
<i>Bursaphelenchus thailandae</i>	5,43%	4,05%	7,20%
<i>Bursaphelenchus tusciae</i>	3,26%	0,65%	4,82%
<i>Bursaphelenchus vallesianus</i>	2,85%	0,10%	5,90%
<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>	13,16%	0,11%	32,53%
<i>Robustodorus megadorus</i>	11,65%	3,46%	17,34%
<i>Sheraphelenchus entomophagus</i>	31,00%	19,76%	37,09%
Geral	8,45%	2,51%	14,36%

Para a variação interespecífica, foi possível determinar a variação de cinco gêneros. A menor e a maior variação ocorreu no gênero *Bursaphelenchus*, variando de 3,52% a 54,14% (Tabela 24). Para a variação intergenérica, isto é, variação entre os gêneros da família Aphelenchoididae, pode-se obter uma variação mínima de 6,82%, média de 42,33% e máxima de 55,21%.

Tabela 24 - Variação de dissimilaridade interespecífica média, mínima e máxima dos gêneros da família Aphelenchoididae da região ribossomal ITS.

Gênero	Variação Interespecífica		
	Média	Mínimo	Máximo
<i>Aphelenchoides</i>	40,28%	28,47%	48,58%
<i>Bursaphelenchus</i>	35,14%	3,52%	54,14%
<i>Devibursaphelenchus</i>	30,69%	8,63%	40,86%
<i>Ektaphelenchoides</i>	37,86%	33,67%	40,20%
<i>Ruehmaphelenchus</i>	31,93%	29,89%	35,67%
Geral	35,18%	20,84%	43,89%

6. DISCUSSÃO

Nematóides apresentam uma grande importância econômica e social por ocasionarem perdas elevadas em diversas culturas agrícolas (SOLIMAN et al., 2012). Dessa forma, para a realização de um controle eficaz é de extrema importância a identificação adequada das espécies de cada gênero. A priori, a identificação para as espécies da família Aphelenchoididae era exclusivamente realizada através de técnicas morfométricas (ALLEN, 1940), o que vem sendo mudado ao longo dos anos com o advento das técnicas moleculares, como o PCR e sequenciamento, que não auxiliaram somente na identificação, mais também na separação de clados desta família (BLAXTER et al., 1998). Atualmente, são técnicas que se complementam para a realização de identificações mais precisas, como o que é observado em Lesufi *et al* (2015), que recorre tanto para as características morfológicas como para as técnicas moleculares.

No entanto, a carência de estudos para determinadas espécies da família, como o que foi observado principalmente para o gene COI, ocasiona a falta ou a baixa quantidade de sequências depositadas no Genbank (DAVIES et al., 2017), dificultando a realização de padrões moleculares mais consistentes. Além da baixa quantidade de sequências, o Genbank possui problemas também com a qualidade das sequências depositadas. Como foi observado nas análises iniciais realizadas neste trabalho, diversas sequências presentes no banco de dados possuem erros, principalmente em decorrência do sequenciamento ou anotação, que, se não constatados e retirados das análises podem ocasionar incongruências nos resultados dos trabalhos.

Os padrões utilizados na diferenciação através do tamanho dos amplicons das sequências das regiões estudadas surgem como uma grande alternativa, mais confiável, por exemplo, no auxílio para a identificação de novas espécies e na diferenciação de grupos moleculares através da formação de clados (TANAKA et al., 2014; YE et al., 2007).

Essa técnica é bastante utilizada para diferenciar espécies através da visualização por meio da técnica de PCR, sendo usada na diferenciação taxonômica do comprimento da região ITS para várias espécies do gênero *Bursaphelenchus* (BRAASCH et al., 2009), como na identificação, por exemplo, de *B. xylophilus*, causador de doença em pinheiro

em Portugal (MOTA et al., 1999), bem como no diagnóstico para o controle de madeiras importadas (GU et al., 2006).

Apesar de que todos os genes utilizados para a realização das análises apresentaram polimorfismo de comprimento de fragmentos de DNA, os resultados com os amplicons não foram suficientes para a realização de uma diferenciação expressiva tanto a nível de gênero com espécie para os genes 18S, 28S e COI, pois não houve um padrão de formação de grupos através do tamanho dos amplicons de acordo com os táxons estudados. Isto ocorreu em função da carência de sequências presentes no banco de dados, o que aumentaria a confiança nos resultados e também, em decorrência da falta do material biológico para a confirmação dos dados obtidos, como o que foi realizado em Braasch et al (2009), que realizou a diferenciação por tamanho dos amplicons com a utilização do material biológico.

No entanto, para a região ITS, essa diferenciação ocorreu em todos os padrões moleculares utilizadas, não somente no tamanho total, mas também nas subunidades que formam esta região (ITS1, 5.8S, e ITS). Assim, é possível realização a diferenciação quatro variáveis, o que aumenta a robustez e confiança nos resultados adquiridos.

Apesar das dificuldades encontradas para a realização desta técnica, como a escassez de sequências nos bancos de dados, este estudo pode ser muito útil em diagnósticos rápidos e de grande eficácia, somente através da utilização da técnica de PCR. Diminuindo expressivos custos com reagentes, tempo e profissionais capacitados, com a realização, por exemplo, de sequenciamento.

Outra grande utilização dos padrões moleculares na diferenciação taxonômica pode ocorrer também através da matriz de dissimilaridade. Nesta matriz, pode-se observar as variações intraespecíficas, interespecíficas e intergenéricas, facilitando, assim, a identificação de espécies e gêneros da família Aphelenchoididae. Para os genes 18S, 28S e COI, foi possível diferenciar, com algumas exceções, os grupos de espécies e gêneros. Floyd et al (2002) descreve que o gene 18S em Nematóides possui um padrão de conservação e divergência em sua composição, torna-se bastante confiável para a realização de comparações entre táxons.

Entretanto, para a região ITS, não foi possível diferenciar em função das divergências apresentadas entre os táxons, não ocorrendo a diferenciação entre espécies e gêneros. Segundo, Kageyama et al (2007), isto ocorre em fungos, devido a grande presença de inserções e deleções em sequências da região ITS, ocasionando dificuldades em comparações precisas e, de acordo com Floyd et al (2002), também ocorre a mesma problemática com a região ITS em Nematóides, sendo extremamente divergente entre táxons, aumentando, assim, a dificuldade para o alinhamento entre táxons diferentes.

Estes estudos moleculares de identificação e diferenciação serão mais consistentes com o uso de sequências maiores e completas para todos os genes filogenéticos. Para isto, há a necessidade de que as grandes coleções depositem sequências dos nematoides da família Aphelenchoididae, bem como de outras famílias, para a continuidade das análises ao longo dos anos e ratificação dos dados obtidos.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Foram identificadas problemas nas sequências depositadas no GenBank: nove sequências com problemas na anotação (0,36%); três com erros no sequenciamento (0,12%); três curtas (0,12%); uma invertida (0,04%); e uma quimera (0,04%);
- Determinou-se, com o auxílio do ABGD, a possível espécie correta de algumas sequências, antes não identificadas a nível de espécie (sp.): 18 sequências para o gene 18S; 11 para o 28S; e uma para COI;
- Após a atualização de dados, foram adicionados: cinco novos padrões moleculares para o gene 18S, 11 para o 28S, nove para COI e seis para a região ITS.
- A divergência entre os tamanhos dos amplicons ocorreu para todos os gêneros da família para os genes 18S, 28S e para a região ITS. No entanto, para o gene mitocondrial COI, não ocorreu para os seguintes gêneros: *Ektaphelenchoides*, *Ektaphelenchus*, *Ficophagus*, *Pseudaphelenchus*, *Robustodorus*, *Ruehmaphelenchus* e *Sheraphelenchus*, com um tamanho de 657 pb;
- A diferenciação total por gêneros ocorreu apenas para o gênero *Laimaphelenchus* do gene COI;
- A diferenciação através da determinação dos tamanhos das subunidades da região ITS foi mais eficiente que a ocorrida para os demais genes, pois ocorreu em todos os padrões moleculares utilizadas, não somente no tamanho total, mas também nas subunidades que formam esta região (ITS1, 5.8S, e ITS);
- Para os genes 18S, 28S e COI, foi possível diferenciar, com algumas exceções, os grupos de espécies e gêneros através da matriz de dissimilaridade. No entanto, não foi possível diferenciar, de maneira adequada, para a região ITS.

8. REFERÊNCIAS

- ALLEN, M. W. Description of a Plesiotype Male for *Anomyctus xenurus*. **Proc. Helm. Soc. Wash.** 7(2):96-98, 1940.
- ALVANI, S.; MAHDIKHANI-MOGHADAM, E.; GIBLIN-DAVIS, R. M.; PEDRAM, M. Description of *Ektaphelenchus berbericus* n. sp. (Rhabditida: Ektaphelenchinae) from eastern Iran. **Nematology**, v. 18, n. 9, p. 1063-1077, 2016.
- ANDERSON, R. V.; LAUMOND, C.; *Noctuidonema daptria*, n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae), an Ectoparasite of the Moth *Lesmone porcia* (Stoll). **Journal of nematology**, v. 24, n. 1, p. 16, 1992.
- ATIGHI, M. R.; POURJAM, E.; PEDRAM, M.; YE, W.; ROBBINS, R. T. Molecular and morphological characterization of *Ekataphelenchoides huntii* sp. n. (Nematoda: Ektaphelenchinae) from northern Iran. **Russian Journal of Nematology**, v. 20, n. 1, 2012.
- AZIZI, K.; ESKANDARI, A.; ASGHARI, R. Morphological and Molecular Study of *Laimaphelenchus penardi* (Steiner, 1914) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941 (Nematoda: Aphelenchoididae) from Iran. **Acta Zoologica Biologica**, v. 67, p. 345-350, 2015.
- BAKHETIA, M.; CHARLTON, W. L.; URWIN, P. E.; MCPHERSON, M. J.; ATKINSON, H. J. RNA Interference and plant parasitic nematodes. **Trends in Plant Science**, v. 10, p. 362-367, 2005.
- BECKENBACH, K.; SMITH, M. J.; WEBSTER, J. M. Taxonomic Affinities and Intra- and Interspecific Variation in *Bursaphelenchus* spp. as Determined by Polymerase Chain Reaction. **Journal of Nematology**, v. 24, n. 1, p. 140, 1992.
- BLAXTER, M. L.; LEY, P. D.; GAREY, J. R.; LIU, L. X.; SCHELDEMAN, P.; VIERSTRAETE, A.; VANFLETEREN, J. R.; MACKEL, L. Y.; DORRIS, M.; FRISSE, L. M.; VIDA, J. T.; THOMAS, W. K. A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. **Nature**, vol. 392, p. 71-75. 1998.
- BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores Moleculares**. 2.ed. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG. 2009. p. 247-255.
- BRAASCH, H.; METGE, K.; URGERMEISTER, W.; SCHRODER, T.; GU, J.; WOLDT, E.; ITS-RFLP analysis, an efficient tool for differentiation of *Bursaphelenchus species*. **Nematology**, v. 11, n. 5, p. 649-668, 2009.
- CLARK, A. G.; WHITTAM, T. S. "Sequencing errors and molecular evolutionary analysis". **Molecular Biology and Evolution**, v. 9, n. 4, p. 744-752, 1992.
- COBON, J. A.; O'NEILL, W. T.; HUTTON D.; GOMEZ, A. *Aphelenchoides fragariae* - a foliar nematode on strawberries in south east Queensland. Proceedings of 18th APPS Conference, Darwin, Australia, p. 105. 2011.

CONAB. Monitoramento Agrícola (2015). Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/monitoramento-agricola>>. Acesso em 10 dezembro de 2018.

DAVIES, K. A.; YE, W.; CENTER, B.; KANZAKI, N. F.; HERRE, E. A.; ESQUIVEL, A.; GIBLIN-DAVIS R. M. Two new species and three morphospecies of *Ficophagus* Davies & Bartholomaeus, 2015 (Nematoda: Aphelenchoididae) from *Ficus* subgenus *Pharmacosycea* (Moraceae) in Central America. **Nematology**, v. 19, n. 3, p. 351-374, 2017.

DING, X.; YE, J.; LIN, S.; WU, X.; LI, D.; NIAN, B. Deciphering the Molecular Variations of Pine Wood Nematode *Bursaphelenchus xylophilus* with Different Virulence. **PloS one**, v. 11, n. 5, p. e0156040, 2016.

ESMAEILI, M.; FANG, Y.; LI, H.; HEYDARI, R. Description of *Aphelenchoides huntensis* sp. n. (Nematoda: Aphelenchoididae) isolated from *Pinus sylvestris* in western Iran. **Nematology**, v. 18, n. 3, p. 357-366, 2016.

ESMAEILI, M.; HEYDARI, R.; FANG, Y.; LI, H. Molecular and morphological characterisation of *Aphelenchoides paraxui* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae) isolated from *Quercus brantii* in western Iran. **European Journal of Plant Pathology**, v. 149, n. 3, p. 625-637, 2017.

FANG, Y.; GU, J.; WANG, X.; WANG, J.; LI, H. Description of *Sheraphelenchus parabrevigulonis* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae) in pine wood packaging from Italy and redescription of *S. sucus* in onion bulbs from South Korea, isolated at Ningbo, China. **Nematology**, v. 17, n. 2, p. 213-229, 2015.

FANG, Y.; LI, H.; MUNAWAR, M.; BERT, W. Description of *Pseudaphelenchus zhoushanensis* n. sp. (Tylenchina: Aphelenchoididae) found in the wood of *Pinus thunbergii* at Zhoushan Islands, Zhejiang Province, China. **Nematology**, v. 18, n. 10, p. 1151-1164, 2016.

FAO. Guide to implementation of phytosanitary standards in forestry. FAO Forestry Paper 164. Rome, Italy, FAO. 2011.

FAOSTAT. Top 10 country production of rice (2017). Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity>. Acesso em 05 de junho de 2019.

FERRAZ, L.C.C.B.; BROWN, D.J.F. Nematologia de Plantas: fundamentos e importância. **Manaus: Norma Editora**, p. 251, 2016.

FIGUEIREDO, J.; SIMOES, M. J.; GOMES, P.; BARROSO, C.; PINHO, D.; CONCEIÇÃO, L.; FONSECA, L.; ABRANTES, I.; PINHEIRO, M.; EGAS, C.; Assessment of the Geographic Origins of Pinewood Nematode Isolates via Single Nucleotide Polymorphism in Effector Genes. **PloS one**, v. 8, n. 12, p. e83542, 2013.

FLOYD, R.; EBEBE, E.; PAPERT, A.; BLAXTER, M. Molecular bascodes for soil nematode identification. **Molecular ecology**, v. 11, n. 4, p. 839-850, 2002.

- FONSECA, L.; CARDOSO, J. M. S.; MORON-LOPEZ, J.; ABRANTES, I. *Bursaphelenchus fungivorus* from *Pinus pinaster* bark in Portugal. **Forest pathology**, v. 44, n. 2, p. 131-136, 2014.
- GOLHASAN, B.; HEYDARI, R.; ALVAREZ-ORTEGA, S.; ESMAEILI, M.; CASTILLO, P. & PALOMARES-RIUS, J. E. *Aphelenchoides iranicus* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae) from West Azerbaijan province, Iran. **Nematology**, v. 18, n. 8, p. 973-985, 2016.
- GU, J.; BRAASCH, H.; BURGERMEISTER, W.; ZHANG, J. Records of *Bursaphelenchus* spp. Intercepted in imported packaging wood at Ningbo, China. **Forest Pathology**, v. 36, n. 5, p. 323-333, 2006.
- GU, J.; MARIA, M.; FANG, Y.; HE, J.; BRAASCH, H.; LI, H. *Bursaphelenchus saudi* n. sp. (Tylenchina: Aphelenchoididae) found in packaging wood from Saudi Arabia. **Nematology**, v. 18, n. 4, p. 475-488, 2016.
- GU, J.; WANG, J.; ZHENG, J. *Devibursaphelenchus wangi* sp. n. (Nematoda: Ektaphelenchinae) feeding on *Aphelenchoides* sp. **Russian Journal of Nematology**, v. 18, n. 1, 2010.
- HOCKLAND, S. *Aphelenchoides besseyi*. **EPPO Bull.** 34, 303–308. 2004.
- JONES, J. T. HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G. J.; GAUR, H. S.; HELDER, J.; JONES, M. G. K.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.; PALOMARES-RIUS, J. E.; WESEMAEL, W. M. L.; PERRY, R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular plant pathology**, v. 14, n. 9, p. 946-961, 2013.
- KAGEYAMA, K.; SENDA, M.; ASANO, T.; SUGA, H.; ISHIGURO, K. Intra-isolate heterogeneity of the ITS region of rDNA in *Pythium helicoides*. **Mycological research**, v. 111, n. 4, p. 416-423, 2007.
- KANZAKI, N.; GIBLIN-DAVIS, R. M.; GONZALEZ, R.; DUNCAN, R.; CARRILLO, D. Description of *Ruehmaphelenchus juliae* n. sp. (Tylenchina: Aphelenchoididae) isolated from an ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky), from South Florida. **Nematology**, v. 17, n. 6, p. 639-653, 2015.
- KANZAKI, N.; TANAKA, R.; IKEDA, H.; TAKI, H.; SUGIURA, S.; MATSUMOTO, K. Phylogenetic status of insect parasitism in the subfamily Entaphelenchinae Nickle with description of *Peraphelenchus orientalis* n. sp. (Tylenchomorpha: Aphelenchoididae). **The Journal of parasitology**, p. 639-649, 2013.
- KUMAR, Sudhir; STECHER, Glen; TAMURA, Koichiro. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular biology and evolution**, v. 33, n. 7, p. 1870-1874, 2016.
- LATHA, N. S.; MUKHOPADHYAY, A. K.; SRI, N. R.; RAVINDRANATH, N.; CHATTERJEE, D. Study on Relative Preferences of Foliar Nematode, *Aphelenchoides besseyi* Christie between Rice and Tuberose on Biochemical Factors. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci**, v. 6, n. 10, p. 1648-1656, 2017.

LESK, A. M. **Introdução à Bioinformática**. 2ª edição. Cap 3. Banco de dados e recuperação de informação. p. 137-177. Artmed, 2008.

LESUFI, M. M.; SWART, A; DONALD, A. H. M.; KNOETZE, R.; Morphological and molecular studies on *Aphelenchoides arachidis* Bos, 1977 (Tylenchina: Aphelenchoididae) from groundnuts in South Africa. **Nematology**, v. 17, n. 4, p. 433-445, 2015.

LILLEY, C. J.; KYNDT, T.; GHEYSEN, G. Nematode resistant GM crops in industrialised and developing countries. In: Jones, J.T, Gheysen, G. & FenoU, C.F. (Eds). In: **Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions**. Springer, Dordrecht. p. 517-541, 2011.

LIMA, V. S. Obtenção de padrões moleculares de espécies de Nematóides da família Aphelenchoididae por sequências das regiões ribossomais ITS, 18S, 28S e mitocondrial COI. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, 2017.

MARAEIZ, R. HEYDARI, R.; BERT. *Aphelenchoides gorganensis* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae), a new species from Iran. **European Journal of Plant Pathology**, v. 149, n. 1, p. 157-169, 2017.

MARCHI, C. E.; FERNANDES, C. D.; BORGES, C. T.; SANTOS, J. M.; JERBA, V. F.; TRENTIN, R. A.; GUIMARAES, L. R. A. Nematofauna fitopatogênica de sementes comerciais de forrageiras tropicais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 5, p. 655-660, 2007.

MCCUISTON, J. L.; HUDSON, L. C.; SUBBOTIN, S. A.; DAVIS, E. L.; WARFIELD, C. Y. Conventional and PCR detection of *Aphelenchoides fragariae* in diverse ornamental host plant species. **Journal of Nematology**, v. 39, n. 4, p. 343, 2007.

MENG, F.; WANG, J.; WANG, X.; LI, Y. ZHANG, X. Expression analysis of thaumatin-like proteins from *Bursaphelenchus xylophilus* and *Pinus massoniana*. **Physiological and molecular plant pathology**, v. 100, p. 178-184, 2017.

MEYER, M. C.; FAVORETO, L.; KLEPKER, D.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C. Soybean green stem and foliar retention syndrome caused by *Aphelenchoides besseyi*. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, n. 5, p. 403-409, 2017.

MEYER, M. C.; GILIOLI, J. L.; PRINCE, P. C. Efeito de doses de herbicidas e sistemas de semeadura na incidência de retenção foliar e haste verde, em cultivares de soja, no Maranhão e Tocantins. In: 30ª Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil. Rio Verde, GO. Resumos. Londrina: Embrapa Soja. p. 133–136. Embrapa Soja. Documentos, 304. 2008.

MEYER, M. C.; HENNING, A. A.; ALMEIDA, A. M. R.; GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; YORINORI, J. T.; FERREIRA, L. P.; SOARES, R. M.; DIAS, W. P. Manejo integrado de doenças da soja em regiões tropicais. In: 1º Simpósio Sobre Manejo de Pragas. Belém, PA. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. 2009.

MOTA, M. M.; BRAASCH, H.; BRAVO, M. A.; PENAS, A. C. First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe. **Nematology**, v. 1, n. 7, p. 727-734, 1999.

MOTA, M.; VIEIRA, P. Pine wilt disease: a worldwide threat to forest ecosystems. Heidelberg, Germany:: Springer, 2008.

NCBI, National Center of Biotechnology Information. Disponível em <www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em 25 março de 2019.

NCBI, National Center of Biotechnology Information. Disponível em <www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em 30 de maio de 2017.

NCBI, National Center of Biotechnology Information. Disponível em <www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em 10 de outubro de 2018.

OLIVEIRA, C.; EULÁLIO, J.; BESSI, R.; HARAKAVA, R. Caracterizações morfológica e molecular de *Bursaphelenchus fungivorus* (Nematoda: Aphelenchida), detectado pela primeira vez no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 35, p. 3-4, 2011.

PALOMARES-RIUS, J. E.; TSAI, I. J.; KARIM, N.; AKIBA, M.; KATO, T.; MARUYAMA, H.; TAKEUCHI, Y.; KIKUCHI, T. Genome-wide variation in the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* and its relationship with pathogenic traits. **BMC genomics**, v. 16, n. 1, p. 845, 2015.

PEDRAM, M.; *Cryptaphelenchus varicaudatus* n. sp. (Rhabditida: Ektaphelenchinae) from Tehran Province, Iran. **Journal of nematology**, v. 49, n. 2, p. 223, 2017.

PEDRAM, M.; GIBLIN-DAVIS, R. M.; KANZAKI, N.; POURJAM, E.; A molecular phylogenetic approach for unravelling the taxonomic status of *Basilaphelenchus persicus* n. gen., n. sp. (Aphelenchoididae: Tylaphelenchinae). **Nematology**, v. 20, n. 6, p. 567-582, 2018.

RUTHERFORD, T. A.; MAMIYA, Y.; WEBSTER, J. M. Nematode induced pine wilt disease: factors influencing its occurrence and distribution. **Forest Science**, v. 36, n. 1, p. 145-155, 1990.

RYBARCZYK-MYDTOWSKA, K.; MABOREKE, H. R.; MEGEN, H. V.; ELSEIN, S. V. D.; MOOYMAN, P.; SMANT, G.; BAKKER, J.; HELDER, J. Rather than by direct acquisition via lateral gene transfer, GHF5 cellulases were passed on from early Pratylenchidae to root-knot and cyst nematodes. **BMC evolutionary biology**, v. 12, n. 1, p. 221, 2012.

RYSS, A.; MCCLURE, M. A.; NISCHWITZ, C.; DHIMAN, C. Redescription of *Robustodorus megadorus* with Molecular Characterization and Analysis of Its Phylogenetic Position within the Family Aphelenchoididae. **Journal of Nematology**, v. 45, n. 4, p. 237, 2013.

SANCHEZ-MONGE, A.; FLORES, L.; SALAZAR, L.; HOCKLAND, S. & BERT, W. An updated list of the plants associated with plant-parasitic *Aphelenchoides* (Nematoda:

Aphelenchoididae) and its implications for plant-parasitism within this genus. **Zootaxa** 4013, p. 207–224. 2015.

SILVA, A. P.; PARRA, P. P.; CAMPOS, V. P.; COSTA, S. S.; VICENTE, C. S. L.; FERREIRA, L. G.; SOUZA, R. M.; MOTA, M. Genetic diversity of *Bursaphelenchus cocophilus* in South America. **Nematology**, v. 18, n. 5, p. 605-614, 2016.

SOLIMAN, T.; MOUNTS, M. C. M.; VAN, W. D. W.; HENGEVELD, C.; ROBINET, C.; OUDE, A. G. J. M. L. Framework for modeling economic impacts of invasive species, applied to pine wood nematode in Europe. **PLoS One**, v. 7, n. 9, p. e45505, 2012.

TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. **Molecular biology and evolution**, v. 28, n. 10, p. 2731-2739, 2011.

TANAKA, K.; CHOI, J.; CAO, Y.; STACEY, G. Extracellular ATP acts as a damage – associated molecular pattern (DAMP) signal in plants. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 446, 2014.

UREK, G.; SIRCA, S.; GERIC, B. Morphometrical and molecular characterization of *Bursaphelenchus* species from Slovenia. **Helminthologia**, v. 44, n. 2, p. 37-42, 2007.

ZENG, Y.; YE, W.; GIBLIN-DAVIS, R. M.; LI, C.; DU, Z.; ZHAO, C. *Schistonchus hirtus* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae), an associate of *Ficus hirta* in China. **Nematology**, v. 12, n. 4, p. 543-556, 2010.

ZHENG, J.; SUBBOTIN, S. A.; HE, S.; GU, J.; MOENS, M. Molecular characterisation of some Asian isolates of *Bursaphelenchus xylophilus* and *B. mucronatus* using pcr-rflps and sequences of ribosomal DNA. **Russian Journal of Nematology**, v. 11, n. 1, p. 17-22, 2003.

ZHOU, L.; CHEN, F.; PAN, H.; YE, J.; DONG, X.; LI, C.; LIN, F. Identifying Virulence-Associated Genes Using Transcriptomic and Proteomic Association Analyses of the Plant Parasitic Nematode *Bursaphelenchus mucronatus*. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 9, p. 1492, 2016.

9. ANEXOS

Anexo 1. Padrões moleculares novos obtidos para as espécies percentes à família Aphelenchoididae do gene ribossomal 18S.

Gênero *Aphelenchoides*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<p><i>Aphelenchoides besseyi</i> <i>consenso</i></p>	<p>TCTACTTGTCTATGACTTAAATGGATAACTGCGGTAAATCTGGAGCCAATACATGCGAACAG CTGCGGCCTTCGGGTTGCAGTGCTATTATTGGAGCAAACTATTCTGTTAGTCCCTTTGCTAAC TCTGGATAAATACTGCGTATCGCACGATCTTGTGTCGGCGAAGTTTCATTTCGAGTATCTGCCCT ATCAACTGGTTGGCAGTGTATTGGACTGCCATGGTTCTAACGGGTAAACGGAGAATCAGGGTT TGACTCCGAGAAATCCGCCTTAAAAACGGCGAATATGTCTAAGGATAGCAGCAGGCGCGAA AATTACCAATATCAATACGATGAGGTAGTGACGAGAAAATAACGAGTCCGTTCTCTCTGAGG TCGGACATTGGAATGGGTACAATGTAGACAATTAACGAGTATCTACGAGAGGGCAAGTCTG GTGCCAGCAGCCGCGGTAAATCCAGCTCTCGTAATACATAGAATTATTGTTGCGGTTAAAAA GTTTCATAGTTGGATTGTTGAACCGTTCGGGGTGCCTTAAACGGCGTCACTCGTGGGCGGTA TTTTGCGGTTTTTCGGGCCTTCGGGTGCGTATGCGCAGGATTACTTTGAACGGCTTAAGTGC TCAAGGCGGGTCTTACGACTGAATACCGGTGCATGGAATAATGGAACAAGGTTGCGGCCGA GTTTTATTGGTTTTGTCGGCTGAAACAATGGTTAACAGGAACAGCCGGGGGCAATTCGATCG CTGCGCGAGAGGTGAAATTCGAGGACCGTAGCGAGACGCACTAAAGCGAAGGCATTGCCA AGAGTGTTCATTAATCAAGAACGAAAGTCAGAGGTTCAAGGCGATTAGATACCGCCTA GTTCTGACCGTAAATGATGCCAACTACCAATTCGCTTGTGGATTGAGTTCATAAGCGAGCG GGTTCCGGAAACGAAAGTCTTCGGTTCGGGGGAAGTATGGTTGCAAGGTCGAAACTTAA AGGAATTGACGGAAGGGCACCACAGGAGTGGAGCTTGCCTTAAATTTGACTCAACACGG GAAACCTCACCCGGCCAGCACATCGTGAGGATTGACAGACCGATAGCTTTTCATGATTCCG TGGATGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTCGTGCTAACGAAGTGTCTGCTTATTGCGATAAC GAGCGAGACGCCGACTGCTAACTAGTGCCTCGATTGATTCTGTTTTCGACGATCATTCTTAG CGGGATTCTGGTTCTTAGCCTCAAGAAATGGCGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGAT GTTCCGGGCCGCACGCGTGTACAATGGTGGTATCAGCGTATTGTCTACTCCGAGAGGAG ATGGCAAACAGTTGAGATATTATTATGGCTGGAATTGAGTGTGAAATTTTCACTCATGAAC GAGGAATTCGAAGTAAATGCGAGTCACTAACTCGCATTGATTACGTCCTGCCCTTTGACAC ACCGCCGTCGCTCCCGGGACTGAGTTGTTTCGAGAAATCCACGGACCGGCTTCGCTCAT GTTTCGGCATGTCGTTGCTGGAAAGTGGCTTAATCGCAACGGCTTGAACCGGGAAAAGTC GTAACAAGGTAGCCGTAG</p>
<p><i>Aphelenchoides fragariae</i> <i>KY684029</i></p>	<p>ACTTATCGGAGCAAACTAATCTTGTGTTTATGCTAACTCTGGGTAACACTGCTTATCGCAGGA CTTTACGTCGGCGAAATTACATCAAGTATCTGCCTTATCAACTTTCGATGGTAGTGTATTGG ACTGCCATGGTGTGACGGGTAAACGGAGAATCAGGGTTCGACTCCGGAGAGGGAGCCTTAG AAACGGCTACCATGTCTAAGGACAGCAGCAGGCGCGCAACTTATCCACTGTTTCATTGAACGA GATAGTGACGAGAAATAACAAGTCCGTTCTTTGAGGTCCGACATTGGAATGGATGAAATC TAAACAATTCATGAGTACCTACGAGAGGGCAAGTCTGGTCCAGCAGCCGCGGTAATCCA GCTCTCGTAATGTATAGAATTATTGTTGCGGTTAAAAAGTTCGATGTTGGATTTTCTACTGTT CGGGGTCGGCTTAAACGAGACGTACTTCTGGCAGTGTTCGATTGATTGGAAGCAATTC AAATTGGATGCGGATTACTTTGAACGGCTTAAAGTCTCAAGGCGAGTCTTCGGACTGAATAC CGGTGCATGGAATAATGGAACAAGGTTTCGGCCGAGTTTATTGGTTTTGTCGGCTAAAACA ATGGTTAACAGGAACAGTGGGGCACTCGTATCGCTGCGGAGAGGTGAAATTCGTTGACC GCAGCGAGACGCCCTAAAGCGAAGGCATTGCCAAGAGTGTTCATTAATCAAGAACGAAA GTCAGAGGTTCAAGGCGATTAGATACCGCCCTAGTCTGACCGTAAACGATGCCAACTATC AATCCGCCAGTAGCTTTTAGTTATTGGCGGGAGGATCGACGAAAACGAAAGTTTTTCGGTTC CGGGGAAGTATGGTTGCAAAGCTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGA GTGGAGCTTGGGCTTAAATTTGACTCAACACGGGAAACCTCACCCGGCCAGTACATCATAAG GATTGACAGATTGAAAGCTTTTCATGATTGATGAATGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTC GTGGTGTGAAGTCTGCTTAAATTCGATAACGAGCGAGACTCCGACTGTTAAATAGTGAAT</p>

	GGTTTATTACTGACCATTACACTTCTTAACGGGATTTCGCAACTTCAAGTTGCAAGAAATGGAG CAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTTCGGGGCGGCACGCGTGTACAATGATGGTAA CAGCGTGATTGTCTCGCCGACAGGGCTTGGCAAACAGTTGAGATATTATTATGGCTGGAA TTGAGTGTGAAATTTCTCTCATGAACGAGGAATCCAAGTAAATGCGAGTCATCAACTCGC ATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGTACCCGGGACTGAGTTATTTTCA GAAATCTACGGACTTTTGTGGGAAGCAATTCTCTGCT
<i>Aphelenchoides fujianensis</i> MF669502	TGTAGTAGAGCGTACATAAAGCGAAACTGCGAACGGCTCATTACAACAGATATAATCTACTT GTTCTTTCAATCTAAACGGATAACTGCGGTAATTCTGGAGCCAATACGTGACTAAAAGCAGT GGCTTCGGGTCGCTGTGCTATTATTGGAGCAAACTATTCGTTAGTCCTTTTGCTAACTCTGG ATAACTGCGTATCGCATGACCTCGTGTGCGGGAAGTTTCATTGAGTATCTGCCCTATCAA CTTGCTGGCAGTGTATTGGACTGCCATGGTTCTAACGGGTAACGGAGGATCAGGGTCTGACT CCGGAGAGGGAGCCTTAGAAACGGCTACCATGTCTAAGGATAGCAGCAGGCGCGAAAATTA CCCAATATCAATACGATGAGGTAGTGACGAGAAATAACGAGTCCGTTCTCTGAGGTCGGA CATTGGAATGGGTACAATCTAGACAATTAACGAGTATCTACGAGAGGGCAAGTCTGGTGCC AGCAGCCGCGTAATCCAGCTCTCGTAATACATAGAATTATTGTTGCGGTTAAAAAGTTCGT AGTTGATCAGCGAACCGTTCGGGGTGCATCCTAACGGGTGTCCTCGTGGACGGTATTTTG CGCGTTTGTGACGGTCTCTCGGATGGCTCGTATGCTGCGTGCAGGATTACTTTGAACGGC TTAAGTGCTCAAGGCGGGTCTTAGGACCGAATACCGGTGCATGGAATAATGGAACAAGGTTG CGGCCGAGTTTTATTGGTTTTGTGCGGCTGAAACAATGGTTAACAGGAACAGCCGGGGCATT CGTATCGTGCAGGAGGTGAAATTCGGGGACCGTAGCGAGACGCACTAAAG

Gênero *Bursaphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<i>Bursaphelenchus conicaudatus</i> LC269964	TCTAAGTGGAGTATTATATAGCGAAACTGCGAACGGCTCATTACAACAGATATAATTTACTA GTTCTTGTCTATATGGATAACTGCGGTAATTCTGGAGCCAATACATGCATCAAGCCTTGGC CTTCGGGTTAGGGTGC AATTATTGGAGCAAACCAGTCTCGTACTGTTTGCTAACTCAGGATA ATTCTGCATATCGCATGGTCTTGTACCGGGAAGTTCTTTCAAGTATCTGCTTTATCAACTAT CGTTGGTAGTTTATTGGTCTACCATGGTGTGACGGGTAACGGGAGAAATCAGGGTTTGACTCCG GAGAGGGAGCCTTAGAAACGGCTACCATGTCTAAGGATAGCAGCAGGCGCGAAAATTAACC AATATCAAAACGATGAGGTAGTGACGAGAAATAACAAGATCGTCTCTTTGAGATCGATTAT TGGAATGAGTACAATCCAGAAATTTAACGAGTACCTACGAGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGC AGCCGCGGTAATTCCAGCTCTCGTAATGTATAGAATTATTGTTGCGATTAAAAAGTTCGTAGT TGGATTGCAACGCAGGTATGGGTCCACCTTCTGGGTGCGTACTCAATGCTTGCAATTTGATG TTTTGCGGCTCGCTTCGGTGGCTTCTGATGCATGCAGGATTACTTTGAACGGCTCAAGT GCTTAAAGCAAGTCTTATGACTGAATACCGGTGCATGGAATAATGGAACAAGGTTGTGGCTG AGTTTTATTGGTTTTGTGCGCCAAAACAATGGTTAACAGGAACAGCCGGGGCATTTCGTATC GCTGCGGAGAGGTGAAATTCGTGGACCGTAGCGAGACGTCCTACAGCGAAGGCATTTGCCA AGAGTGTTCATTAATCAAGAACGAAAGTCAGAGGTTTCAAGGCGATTAGATACCGCTCTA GTTCTGACCGTAAACGATGCCAACTGTCGATCCGCTTGTGGATTCTATTCATGAGCGGGGAG ATTTCCGGAACGAAAGTTTTTCGGTTTCGGGGGAAGTATGGTTGCAAAGCTGAAACTTAA GGAATTGACGGAAGGGCACCCAGGAGTGGAGCTTGGGCTTAAATTTGACTCAACACGGG AAATCTCACCCGGCAGTACATCGTAAGGATTGACAGACTGACAGCTTTTCATGATTCGGT GAATGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTCGTGGATTGATTTGTCTGGTTTATTCGATAACGA ACGAGACTTTAACTATTAATAGTGCGCATGTTGCTTCGGTGCCTGTCGATCACTTCTTAAAG GAATTTGTGGTTTTCAACTCAAGAAATTGAGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTT CGGGCCCGCACGCGTGTACAATGGTGGTAACAGCGTGATTGTCCTTTCCGACAGGGATTG GCAAACAGTTGAGATATTATTATGGCTGGAATTGAGTGTGAAATTTCTCTCATGAACGAG GAATCCAAGTAAATGTGAGTCATTAACCTTGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACAC GCCCCTCGCTGCCCGGACTGAGTACTTCGAGAAAAGTGGGATCGCTGGAGTTCGATGTT TCGGCATTGTCTTTGGTGAAGAACTAGTTTAAATCGCAGTGGCTT

<p><i>Bursaphelenchus hofmanni</i> <i>consenso</i></p>	<p>ATGCATGTCTAAGTGGAGTATTATACAGCGAACTGCGAACGGCTCATTACAACAGATATAA TTTACTAGTTCCTGATCCTATATGGATAACTGCGGTAATTCTGGAGCCAATACATGCATCAAG CCTCGGCCTTCGGGTTTCGGGTGCAATTATTGGAGCAAACCAGTCTTGTACTGTTTGCTAAC TCTGGATAATTCTGCTTATCGCATGGTCTCGTACCGGCGAAGTTTCTTTCAAGTATCTGCTTAA TCAACTATCGTTGGTAGTTTATTGGACTACCATGGTGTGACGGGTAACGGAGAATCAGGGT TTGACTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAACGGCTACCATGTCTAAGGATAGCAGCAGGCGCGA AAATTACCCAATATCAAAACGATGAGGTAGTGACGAGAAAATAACGAGATCGTTCTCTTTGAG GTCGGTATTGGAATGAGTACAATCCAGACATTTAACGAGTATCTACGAGAGGGCAAGTCT GGTGCCAGCAGCCGCGGTAAATCCAGCTCTCGTAATGTATAGAATTATTGTTGCGATTA AGTTCGTAGTTGGATTGTCAAGCGGGAATGGGTCCACCTTCGCGGTGCGTACTCAATGCCCG CATTTTGCTGGTTTTCGCGGCTCGACTCTGTTGGCGTTCGTGATGCCAGCAGGATTACTTTG AACGGCTCAAGTGCTCAAAGCGAGTCTTATGACTGAATACCGGTGCATGGAATAATGGAACA AGGTTGCGGCCGAGTTTATTGGTTTTGTCGGCTGAAACAATGGTTAACAGGAACAGCCGGG GGCATTCTGATCGCTGCGCGAGAGGTGAAATTCGTGGACCGTAGCAGAGACGCCGACAGCG AAGGCATTTGCCAAGAGTGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTCAGAGGTTGCAAGGGCATT AGATACCGCCCTAGTTCTGACCGTAAACGATGCCAAGTGTGATCGGCTTGTGGATTTTATTC ATGAGCGGGGAGATTCCCGAAACGAAAGTTTTTCGGTTTCGGGGGAAGTATGTTTGC CTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCTTGCCTTAATTTGA CTAACACGGGAAATCTACCCGGTCACTACATCGTGGAGTGGAGACTGACAGCTCTTT CATAATTGGTGAATGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTCGTGGATTGATTTGTCTGGTTTAT TCCGATAACGAGCGAGACTTAACTATTAATAGTGCACCTGTTGCTTCGGCTGCGAGTGAA CACTTCTTAAAGGAATTTGTGGTTTCCAACCTCAAGAAATTGAGCAATAACAGGCTGTGAT GCCCTTAGATGTTTCGGGGCCGACGCGTGTACAATGATGGTAACAGCGTGTATTGCTCTTTTC CGACAGGAATTGGCAAACAGTTGAGATATTATTATGGCTGGAATTGAGTGTGAAATTTTCT CTCATGAACGAGGAATCCAAGTAAATGTGAGTCATTAACCTGCATTGATTACGTCCTGCC TTTGTACACACCGCCGCTCGCTGCCCGGACTGAGTTACTTCGAGAAAACAGGGATCGTCG GTGTTCAATGTTTCGGCATTGTCTTCGATGCGAACTAGTTTAAATCGCAGTGGCTTGAACCGG CAAAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAG</p>
<p><i>Bursaphelenchus luxuriosae</i> <i>LC269963</i></p>	<p>TCTAAGTGGAGTATTATATAGCGAACTGCGAACGGCTCATTACAACAGATATAAATTTACTA GTTCTTGTCTTATATGGATAACTGCGGTAATTCTGGAGCCAATACATGCATCAAGCCCTGGC CGTTCGGTTAGGGTGAATATTGGAGCAAACCAGTCTCGTACTGTTTGTAACTCAGGATA ATTCTGCATATCGCATGGTCTAGTACCGGCGAAGTTTCTTTCAAGTATCTGCTTTATCAACTA TCGTTGGTAGTTTATTGGTCTACCATGGTGTGACGGGTAACGGAGAATCAGGGTTGACTCC GGAGAGGGAGCCTTAGAAACGGCTACCATGTCTAAGGATAGCAGCAGGCGCGAAAATTACC CAATATCAAAACGATGAGGTAGTGACGAGAAAATAACAAGATCGTTCTCTTTGAGATCGATTA TTGGAATGAGTACAATCCAGAAATTTAACGAGTATCTACGAGAGGGCAAGTCTGGTGCCAG CAGCCGCGGTAATTCAGCTCTCGTAATGTATAGAATTATTGTTGCGATTAAAAAGTTCGTAG TTGGATTGCAACGCAGGTATGGGTCCATCCTTTGGGTGCGTACTCAATGCTTGCATTTTGCAT GTTTTTGTGGCGTCTCGTTCGGTGGCGTTCATGATGCATGCAGGATTACTTTGAACGGCTCAAG TGCTTAAAGCAAGTCTTATGACTGAATACCGGTGCATGGAATAATGGAACAAGGTTGTGGCT GAGTTTATTGGTTTTGTCGGCCAAAACAATGGTTAACAGGAACAGCCGGGGGCAATTCGTAT CGCTGCGCGAGAGGTGAAATTCGTGGACCGTAGCAGAGCTCCTACAGCGAAGGCATTGGC AAGAGTGTTCATTAATCAAGAACGAAAGTCAGAGGTTGCAAGGCGATTAGATACCGCTCT AGTTCTGACCGTAAACGATGCCAAGTGTGATCCGCTTGTGGATTTTATTCATGAGCGGGGA GATTTCCGAAACGAAAGTTTTTCGGTTTTCCGGGGAAGTATGGTTGCAAGCTGAAACTTAA AGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCTTGGCGCTTAATTTGACTCAACACGG GAAATCTACCCGGCCAGTACATCGTAAGGATTGACAGACTGACAGCTCTTTCATGATTCCG TGAATGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTCGTGGATTGATTTGTCTGGTTTATTCGATAACG AACGAGACTTTAACTATTAATAGTGCATGTTGCTTCGGCTGCGTGTGATCACTTCTTAAA GGAATTTGTGGTTTTCAACCTCAAGAAATTGAGCAATAACAGGTTCTGTGATGCCCTTAGATGT TCGGGGCCGACGCGTGTACAATGGTGGTAACAGCGTATTGCTTTTCCGACAGGAATT GGCAAACAGTTGAGATATTATTATGGCTGGAATTGAGTGTGAAATTTTCTCTCATGAACGA GGAATTCAGTAAATGTGAGTCATTAACCTGCATTGATTACGTCCTGCCCTTGTACACAC CGCCCGTCTGCCCGGACTGAGTTACTTCGAGAAAACAGGGATCGCCGGAGTTCGATGT TTCGGCATTGTCTTTGGTGAAGACTAGTTTAAATCGCAGTGGCTT</p>

<p><i>Bursaphelenchus rainulfi</i> <i>consenso</i></p>	<p>TCTAAGTGGAGTATTATAAAGCGAAACTGCGAACGGCTCATTACAACAGATATAATTTACTA GCTCTATGTCCTATATGGATAAAGTGGGTAATTCTGGAGCCAATACATGCATCAAGCCCTCGAC CTTCGGGCTCGGGGTGCAATTATTGGAGCAAAACAGTCTTGTACTGTTTGCTAACTCTGGAT AATGCTGCTTATCGCATGGTCTTGTACCGGCGAAATTGCTTTCAAGTATCTGCTTTATCAACT AACGTTGGTATTTTCATTGGATTACCATGGTGTGACGGGTAACGGAGAATCAGGGTTTGACT CCGGAGAGGGAGCCTCAGAAACGGCTACCATGTCTAAGGATAGCAGCAGGGCGGAAAATTA CCCAATATCAAAGCGATGAGGTAGTGACAGAAAATAACGAGATCGTTCTCTTTGAGGTCGGT CATTGGAATGAGTAAAATCCAGACATTTAACGAGTATCTACGAGAGGGCAAGTCTGGTGCC AGCAGCCCGGTAATTCAGCTCTCGTAATGTATAGAATTATTGTTGCGATTAAGGTTTCGT AGTTGGATTGCTAATGCTACGTGGGTCCGTCTTCGTGACGTGACTCAACGGGCGAATTTTGT TGGTTTTGCGGCGTGGTTTCGATCGGTTTCGTAATGCCAGCAGGATTACTTTGAACGGCTCA AGTGCTCAGAGCAAGTCTTATGACTGAATACCGGTGCATGGAATAATGGAACAAGGTTGCGG CCGAGTTTTATTGGTTTTGTCGGTTCGACAATGGTTAACAGGAACAGCCGGGGGCATTCGT ATCGCTGCGGAGAGGTGAAATTCGTGGACCGTAGCAGAGCTACGAAAGCGANAGGCATT TGCCAAGAGTGTTCATTAATCAAGAACGAAAGTCAGAGGTTGCAAGGCGATTAGATACCG CCCTAGTTTTGACCGTAAACGATGCCAAGTGTGATCCGCTTGTGGATTTTATTCATGAGCGG GGAGATTTCCGAAACGAAAGTTTTTCGGTTTTCGGGGAAGTATGGTTGCAAAGCTGAAACT TAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCTTGGCGCTTAATTTGACTCAACAC GGGAAATCTCACCCGGCCAGTACATCGTGAGGATTGACAGACTGACAGCTCTTTCATGATTC GGTGAATGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTCGTGGATTGATTTGTCTGGTTTATCCGATAA CGAGCGAGACTTTGACTATTAATAGTGCATTGTTGCTTCGGCTGCGATTGAACACTTCTTA AAGGAATTTGGCTTCTAGCCTCAAGAAATGAGCAATAACAGGCTGTGATGCCCTTAGA TGTTCCGGGGCCGACCGGTGCTACAATGGTGGTAACAGCGTATTGTCCTTTCCGAGAGGA ATTGGCAACAGTTGAGATATTATTATGGCTGGAATTGAGTGTGAAATTTCTCTCATGAAC GAGGAATTCAGTAAATGCGAGTCAATTAAGTGCATTGATTACGTCCTGCCCTTTGTACAC ACCGCCGTCGCTGCCGGGACTGAGTACTTCGAGAAAAGTGGGATTGTTACAATGGAG TTCGATGTTTCGGCATTGTCTTCGATGCGAACTAGTTAATCGCAGTGGCTTGAACCGGGCAA AAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGTGAACCTTCGGCTGGATCATT</p>
<p><i>Bursaphelenchus xylophilus</i> <i>consenso</i></p>	<p>ATGCATGTCTAAGTGGAGTATTATATAGCGAAACTGCGAACGGCTCATTACAACAGATATAA TTTACTAGTTCTTGTTCATATATGGATAACTGCGGTAATTCTGGAGCCAATACATGCATCAAG CCCTGGCCGCTCGGTTAGGGTGAATTATTGGAGCAAAACAGTCTCATACTGTTTGCTAACT CAGGATAATTCTGCATATCGCATGGTCTTGTACCGGCGAAGTTCTTTCAAGTATCTGCTTTA TCAACTATCGTTGGTAGTTTATTGGTCTACCATGGTGTGACGGGTAACGGAGAATCAGGGTT TGACTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAACGGCTACCATGTCTAAGGATAGCAGCAGGGCGGAA AATTACCAATATCAAAACGATGAGGTAGTGACGAGAAAATAACAAGATCGTTCTCTTTGAGA TCGATTATTGGAATGAGTACAATCCAGAAATTTAACGAGTACCTACGAGAGGGCAAGTCTG GTGCCAGCAGCCGCGTAATTCAGCTCTCGTAATGTATAGAATTATTGTTGCGATTAAGAA GTTTCGTAGTTGGATTGCAACGCAGGTATGGGTCCACCCTCTGGGTGCGTACTCAATGCTTGCA TTTTGCATGTTTTGTGGCGTTCGCTTCGGTGGCGTTCATGATGCATGCAAGGATTACTTTGAAC GGCTCAAGTGCTTAAAGCAAGTCTTATGACTGAATACCGGTGCATGGAATAATGGAACAAGG TTGTGGCTGAGTTTTATTGGTTTTGTTCGGCTAAAACAATGGTTAACAGGAACAGCCGGGGGC ATTCGTATCGTGCAGGAGGTGAAATTCGTGGACCGTAGCAGACGTCCTACAGCGAAGG CATTGCAAGAGTGTTCATTAATCAAGAACGAAAGTCAGAGGTTGCAAGGCGATTAGAT ACCGCTCTAGTTCTGACCGTAAACGATGCCAAGTGTGATCCGCTTGTGGATTTTATTCATGA GCGGGGAGATTTCCGAAACGAAAGTTTTTCGGTTTTCGGGGAAGTATGGTTGCAAAGCTGA AACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCTTGGCGCTTAATTTGACTCA ACACGGGAAATCTCACCCGGCCAGTACATCGTAAGGATTGACAGACTGACAGCTCTTTCATG ATTCGGTGAATGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTCGTGGATTGATTTGTCTGGTTTATTCCG ATAACGAACGAGACTTTAACTATTAATAGTGCATGTTGCTTCGGCTGCGTGTGATCACTT CTTAAAGGAATTTGTGGTTTTCAACCTCAAGAAATTGAGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTT AGATGTTCCGGGGCCGACCGGTGCTACAATGGTGGTAACAGCGTGATTGTCCTTTCCGACA GGAATTTGCAACAGTTGAGATATTATTATGGCTGGAATTGAGTGTGAAATTTCTCTCATG AACGAGGAATTCCAAGTAAATGTGAGTCAATTAAGTGCATTGATTACGTCCTGCCCTTTGTA CACACCCCGTCGCTGCCGGGACTGAGTACTTCGAGAAAAGTGGGATCGCTGGAGTTTC GATGTTTCGGCATTGTCTTTGGTGAAGTACTTTAATCGCAGTGGCTTGAACCGGGCAAAA GTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGTGAACCTTCGGCTGGATCATT</p>

Gênero *Cryptaphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<p style="text-align: center;"><i>Cryptaphelenchus varicaudatus KY828212</i></p>	<p>GGTTAAAGCTAAACGGATAAAGTGCAGTAAATCTGGAGCTAATACGTGCGGAAAACCTGATTC CTTCGGAGTCGGGTGCATTTATTGGTGCAAAATCAGTCTCTGAAAATTTGCTTAATCTGGATA ACCCAGCATATCGCATGGCCTTGTGCCGGCGAAGTTTCTGTCTAGTATCTGCTTATCAATTG TCGTTGGTGTGTATTGGAGTACCACGGTATTAACGAGTAACGGAGAATCAGGGTTTGACTC CGGAGAGGGAGCCTTAGAGACGGCTACCATGTCTAAGGATAGCAGCAGGGCGGAAAATTAC CCAATGACAAAACGCCGAGGTAGTGACAAGACATAACAAGGCCGTTCTCTATGAGTCTGGTT ATTGGAATGAGTAAAATCCAGACACTTTAACGAGTATCTACGAGAGGGCAAGTCTGGTGCCA GCAGCCGGTAATTCCAGCTCTCGTAAGGTATAGAATTATTGCTGTGTTAAAAAGTTTCGTA GTTGGATTGTCAAGTTGGCGGGCTGCGCGTTCGCGTCAGTTCTCGTCGCTTCTTTTGTAC GTTCTGTGCGGTTGGCTTCGGTACGTCGTGCTCCGTACAGGATTACTTGAACGGCTCAGTG CTCAAATCATGTCTTATGACTGAATACCGGTGCATGGAATAATGGAACAAGGCTTCGCGCCG ATGTTTTACTGGTTTTACCGGCTGAAACAATGGTTAACAGGAACAGTCGGGGGCAATTCGAT CGTTACGCGAGAGGTGAAATTCGTGGACCGTAGCGAGACGCCAAAAGCGAAGGCACTTGC CAAGAGTGTTCATTAATCAAGAACGAAAGTCAGAGGTTGGAAGGCGATTAGATACCGCTA TAGTTCTGACCGTAAACGATGCCAAGTGTGCTCAGCTCGTGGATTCAATTCATGAGTGGG AGGTTCCCGAAAACGAAAGTTTTTCGGTTCGGGGGAAGTATGGTTGCAAAACTGAAACTTA AAGGAATTGACGGAAGGGCACACCAGGAGTGGAGCTTGCAGCTTAATTTGACTCAACACG GGAAAACACCCGGCCAGTACACTGTAAAGATTGACAGATTGATAGCTCTTTCATGATTCCG GTGAATGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTCGTGGATTGATTGTCTGGTTTATCCGATAAC GAGCGAGACTTTGACTATTAATAGTTCGTTTGTTCCTTGTATGCAAGCGAATCTTCTAAAA GAATTTGGGGTTTCAACCTCAAGAGATTGAGCAATAACAGGCTGTGATGCCCTTAGATGT TCGGGGCCGACGCGTGTACAATGATGGTAACAGCGTATTGCTTCTCCGAAAGGAGTT GGCAAACAGTTGAGATATTATTATGGCTGGAATTGAGAGTTGAAATTTCTCTCATGAACGA GGAATTCGAAGTAAATGCGAGTCATCAACTCGCATTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACAC CGCCGTCGCTGCCGGGACTGGGTT</p>

Gênero *Ektaphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<p style="text-align: center;"><i>Ektaphelenchus oleae KX621006</i></p>	<p>AAACCCATAAACACTTTGGTAATTTCTGGAGCTAATACATGCGCAACAGCCTCGGTTCTCGG ATCGTGGTGCATTTATTGGTGCAAAATCAGTCGTTGAACTGTATGCTTACTCTGGATAAACAA GCATATCGCACGGCCTTGTGCTGGCGAAGTTTCTGTCTAGTATCTGCCTTATCAACTGTCGTT GGGAGTGTAGTGGACTCCCATGGTTGTGACGGTAACGGAGAATCAGGGTTTGACTCCGGAG AGGGAGCCTTAGAAACGGCTACCATGTCTAAGGATAGCAGCAGGGCGGAAAATTACCCAAT ATCAAAAGGATGAGGTAGTAACGAGAAATAACGAGATCGTTCTCTATGAGTCTGATCATTGG AATGAGTACAATCCAGAACTTTAACGAGTATCTACGAGAGGGCAAGTCTGGTCCAGCAGC CGCGGTAATTCAGCTCTCGTAAGGTATAGAATTATTGCTGTGGTTAAAAAGTTCTGATTTGG ATTTGAACGTTGGCGGGTCTACCTTCGCGGTTGGTACTCGTTGCCTTCGATTTTGTTCGTT TGGGTGGCGGTTGGCTTCGGCCGGCTGTCCGCCGTCGGACAGGATTACTTGAACGGCTCA AGTGCTCAACGCAGTCTTATGACTGAATACCGGTGCATGGAATAATGGAAGAAGGCTTCGG CCGAGTTTTATTGGTTTTATCGGTTGAAGCAATGGTTAACAGGAACAACCGGGGCAATTCGT ATCGCTACGCGAGAGGTGAAATTCGTGGACCGTAGCGAGACGCCAAAAGCGAAGGCACTT GCCAAGAGTGTTCATTAATCAAGAACGAAAGTCAGAGGTTGGAAGGCGATTAGATACCGC CCTAGTCGGAACCGTAAAAATTCATA</p>

Gênero *Laimaphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<i>Laimaphelenchus suberensis</i>	AGATATAATTTACTTGTCTTTGATTTAAATGGATAAAGTGGTAATTCTGGAGCCAATACAT GCACAAAGCCGCGCTTCGGTCTGGTGTCTATTATTGGAGCAAACCATTCGTTAGTCCTTTT GCTAACTCTGGATAAATCTGCGTATCGTACGGTCTCGAACCAGCAAGTTTCTTTCAAGTATC TGCCCTATCAACTGTCGTTGGTAGTGTATTGGACTACCATGGTGTAAACGGGTAACGGAGGA TCAGGGTCTGACTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAACGGCTACCATGTCTAAGGATAGCAGCA GGCGGAAAATTACCAATATCAATACGATGAGGTAGTGACGAGAAATAACGAGACCGTTC TCTATGAGGTCGGTCAATTGGAATGGGTACAATCTAGACAATTTAACGAGTACCTACGAGAGG GCAAGTCTGGTCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCTCGTAAATCTATAGAATTATTGTTGCG GTTAAAAAGTTTCGTAGTTGGATTGTTAAACTATCTCGGGTCCACCTAACGGGTGCGTACTCG TGGGTAGTATTTACGCGTTTGTATGCATGGGCGCAAGTTCGTGTATGTGCGTGTAGGATTA CTTTGAACGGCTTAAAGTCTTAAAGCGAGTCTACGACTGAATACCGGTGCATGGAATAATG GAACAAGGTTTCGGCTGAGTTTTATTGGTTTTGTCGGCTGAGACAAATGGTTAACAGGAACAG CCGGGGCATTTCGTATCGCCGCGGAGAGGTGAAATTCGCGGACCGCGGCGAGACGCACTA AAGCGAAGGCATTGCCAAGAGTGTTCATTAATCAAGAACGAAAGTCAGAGGTTTCAAGG CGATTAGATACCGCCCTAGTCTGACCGTAAATGATGCCAAGTGTCAATCCGCTGTTTTTTC TAAAAATGGGCGGCGGACTTCCGGAACGAAAGTGTTCGGTTCGGGGGAAGTATGGTTG CAAAGCTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCTTGGCGCTTA ATTTGACTCAACACGGGAAACCTCACCGGCCAGTACATCGTGGAGATTGACAGACCGATAG CTCTTTCATGATTCGGTGAATGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTCGTGGACCGATTGTTCTG CTTTATTGCGATAACGAGCGAGACGCCAACTGTTAAATAGTGCCTGATTACTTCGGTTGTCG GTGATCACTTCTTAAAGGATTGTGGTTCTAAGCCTCAAGAAATGGCGCAATAACAGGTCT GTGATGCCCTTAGATGTTTCGGGGCCGACGCGTGTACAATGGTGGTATCAGCGTATTGTC CGACTCCGAAAGGAGGAGGCAAACAGTTGAGATATTATTATGGCTGGAATTGAGTGTGAAA TTTTCACTCATGAACGAGGAATTCCAAGTAAATGCGAGTCACTCAACTGCATTGATTACGTCC CTGCCCTTTGTACACACCGCCGCTCGCTCCCGGACTGAGTTGTTTCGAGAAATCCACGGAC CGGTGATGTTACATGCTTCGGTAT

Gênero *Pseudaphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<i>Pseudaphelenchus scheffrahni AB971163</i>	TGTAGTGGAAAGGATTAATGAAACTGCGTACAGCTCATTACAACAGGGATTGTTTATAA CGTAAATGAACTTAGCTGGATATTATCGGTAAATCTGTGACCAATACGTGGATATATACATGT GTGCTTCGGCATGCATTCAAAGCCTCTTTCAAAGCAATGACTCTAGTATTAAAGGCTTAA TATTACCGATGATCGTACGCCCTTGTGGTATGACAAACGTTATAAATCTCTGCTCTATTAAC CTTGTCTAGTGTAGTACTGCCAAGGTTGTAATGGGTAAACGGAGAATTAGGGTTCGTCTCC GGAGAAGGCGCCTGAGAAATGGCGACTAGTCCACGGAATGCAGCAGGCGGAAACTTACC CAATGTCAGATCGACGAGGTAGTGAAGAAACATAGCGAGACTGACCTCTCTGAGGCGGTC ATTGCAATGGATTAAATCCAAACTCTTTTGTAGTATCAACGAGTGGGCAAGTCTGGTGCCAG CAGCCGCGGTAATCCAGCACTCGTAGTGTATAGATATATTGTTGCGTTTTAAAAAGCTCGTAG TTGGATTGCCACATGGGTTTCGGGTTTCGGACTTCGGTTCGCAACTGATCTGTGTTCTGTGTCG AGGGCTCGGCTTCGGTTCGAGTCACTGACACTGGATTACTTTGAATGTCTTAGGTGCTCAATG CGAGGCTTAAAGCTTGAATTGCATTTTATGGAATAATGGAACAGGTTTCGGCCGAGTTTCGTT GGTTTGTGGTCAAGCAATGGTTAAAAGGGACAGTTCGTGGGTGAACGTATCCTGCTCGA GGAGTGAATCTGTGGACAGTGGCGAGACGACCGAAAGCGAAAGCATTACCAAGGATGTT TTCATTAATCAAGAGCGAAAGTCAGAGGATCGAAGGTGATTAGATACCGCCCTAGTTCGAC CGTAAACGATGCCAACTGTTGGTCTGCGTGTGGATTTTATTCACTGCGTGGGAAAGCCCCG GAAACGAAAGTGTTCGGCTCCGGGGTGTAGTGGTTGCAAGCTGAAACTTAAAGGAATTG ACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGATCTTTCGGCTTAAATTTGACTCAACACGGGAAAGCTTA

	<p>CCTGCGTAGTATATTGTTAGGATTGACAGACTGCTGGCTCTTTCATAAATTCGGTTAATGGTGG TGCATGGCCGTTCTTAGTTCGTGGATTGATTTGTCTGCTTAATTCGATAACGAGCGAGACTC TGACAATTAATGATTTTTGCCCATAAATGTTTCAGATGTATATCTTAGTTGGATTGATTATGTT TAATGATATGAAAGAGAGCAATAACAGGTCTGTTATGCCCTGAGATAGGCAGGGCCGCACG CGTGCTACAATGTTGGTGGCAGCGTGCTTATTCTGTTTTGATAGTAAGCGGTAACCCGTTGAG GTATTATTATGGTCGGAATTGAGGATTGTAATATTTCTCGTGAACAAGGAATTCCTTGTAAAT TGAATGTCATTATCGTTCATGAATATGTCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGCTGCC GGAAGTGAATTTTCGAGAAGATTATGGACGATGGAGCTTTTCACTTCGGTGTGGGTTTC GTTGAAAGTGATTTAATCGCGATGGCTT</p>
<p><i>Pseudaphelenchus sui</i> AB971166</p>	<p>TGTAGTGGAAAGGATAAAAGTGGAACTGCGTACAGCTCATTACAACAGAGATTTTATGTAA CGTATTGAACTTAGCTGGATATTAACGGTAATTCTGTGACCAATACATGGATTCAAATGCAC GCTTCGGCGCTATTCAATGCCTTATTTCAAATCTAATACTATAGTGAAGGCAATTAAT ATTACCGATGATCGTATACCTTGTGGTGGCGACAAACGTTAATACTCTGCTCTATTAACC TTGTGCTGGTGTAGTGTACTGCCAAGGTAGTAATGGTAACGGAGAATTAGGGTTCGCTCC GGAGAAGGCGCCTGAGAGATGGCGACTAGTTCCACGGAACGCAGCAGGCGCGAAACTTACC CAATGTCAGATCGACGAGGTAGTGAAGAAACATAGCGGAGACTGACCTCTCTGAGGGCGGTC ATTGCAATGGATTTAATCCAACTCTTTTTGAGTATCAACGAGTGGGCAAGTCTGGTGCCAG CAGCCGCGGTAATTCAGCACTCGTAAGGTATAGATATATTGTTGCGTTTAAAAAGCTCGTA GTTGGATTGTCACACGGGTTCCGGTTCGGACTTCGGTTCGCAATTCGATCTGTGTTAGTGTG AAGGCGCGGCTTCGGTCTGGTCACTCACACTGGATTACTTTGAATGTCTTAGGTGCTCAATG CGAGGCTTATGCTTGAATTGCATTACATGGAATAATAGAACAAGGTTTTGGCCGGTTTTATT GGTTTGATGGTTGAAACAATGATTAACAGGAATAGTTCGTGGGTGAACGTATCGCTGCTCGA GGAGTGAAATCTGTGGACAGTGGCGAGACGACCGAAAGCGAAAGCATTACCAAGGATGTT TTCATTAATCAAGAGCGAAAGTCAGAGGATCGAAGGTGATTAGATACCGCCCTAGTTCGAC CGTAAACGATGCCAAGTGTGATCTGCGTGTGGATTTTATTCACTGCGTGGGGAAGCCTCCGG AAACGAAAGTGTTCGGCTCCGGGGTATGATGGTTGCAAAGCTGAAACTTAAAGGAATTGA CGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGATCTTGGCGGTTAATTTGACTCAACACGGGAAAGCTTAC CTGAGTAGTATATTGTTAGGATTGACAGACTATTGGCTCTTTCATAAATTTGGTTAATGGTGGT GCATGGCCGTTCTTAGTTCGTGGATTGATTTGTCTGCTTAATTTGCGATAACGAGCGAGACTCT GACAATTAATGATTGTTGCCAGAATTGTTTCAGATGTCTATTTTAGTTGGATTGATTATGTT TAATGATATGAAAGAGAGCAATAACAGGTCTGTTATGCCCTGTGATGGTCAGGGCCGCACGC GTGCTACAATGTTCTGGCAATGTGCTTGTTCAGTTTTGATAGGAGTTGGCAAACCGTTGAGT CATTATTATTGTCGGGATTGAGGATTGTAATTTCTCGTGAACAAGGAATTCCTTGTAAAT GATTGTCATTATCGATCAATGAATATGTCCTGCCCTTTGTACACACCCGCCGTCGCTGCCCG GAACTGAGTATTTCGAGAAGATTATGGACGATGGAGCTTTTCACTTCGGTGTGGGTTTCG TTGAAAGTGATTTAATCGCGATGGCTT</p>

Gênero *Sheraphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<p><i>Sheraphelenchus entomophagus consenso</i></p>	<p>ATGCATGTCTAAGTGGAGTATTATAAAGCGAACTGCGAACGGCTCATTACAACAGATATAA TATACCAGTTCCTGAATCTATATGGATAACTGCGGTAATTCTAGAGCCAATACATGTTGCAAG CCGGAGCCTTCGGGTTTCTGGTGCAGTTATTGGAGCAAACCAGCCTCGTACTATAAATGCTA ACTCAGAATAAATCTGCATATCGCATGGTCTTGTACCGGCGAAGTTTCTGTCTAGTATCTGCT TTATCAACTATCGTTGGTAGTTTATTGGACTACCATGGTGTGACGGGTAACGGAGAATCAG GGTTTGACTCCGGAGAGGGAGCCTTAGAAACGGCTACCATGTCTAAGGATAGCAGCAGGGCG CGAAAATTACCAATATCAAAACGATGAGGTAGTGACGAGAAATAACGAGTCTGTTCTCTAT GAGATCGACTATTGGAATGAGTACAATCCAGAAATTTAACGAGTACCTACGAGAGGGCAA GTCTGGTGCCAGCAGCCGGTAATTCAGCTCTCGTAATGTATAGAATTATTGTTGCGATTA AAAAGTTCGTAGTTGTATTGAAACGCAGGCTCGGGTCCATCTTCGTGATGCGTACTCGGTGCT TGCATTTGTCATGTTTTGCATTGGCTTCGGTGGCGTGATACATGCAGGATTACTTTGAACG GCTCAAGTGCCTAAAGCGAGTCTTATGACTGAATACCGGTGCATGGAATAATGGAACAAGGT TGAGGCCGAGTTTTATTGGTTTTGTCGGCTTGAACAATGGTTAACAGGAACAGCCGGGGCA</p>

	<p>TTCGTATCGCTGCGGAGAGGTGAAATTCGTGGACCGTAGCGAGACGACCGACAGCGAAGG CATTGCGCAAGAGTGTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTCAGAGGTTGCAAGCGGATTAGAT ACCGCTCTAGTTCTGACCGTAAACTATGCCAACTGTCGATCCGCTTGTGGATTCTATTCATGA GCGAGGAGATTCCCGGAAACGAAAGTTTTTCGGTTTCGGGGGAAGTATGGTTGCAAAGCTGA AACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCTTGGCGCTTAATCTGACTCA ACACGGGAAATCTACCCGGCCAGTACATTGTGAGGATTGACAGACTGAAAGCTCTTTCATA ATTCGGTGAATGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTCGTGGATTGATTTGTCTGGTTTATCCG ATAACGAACGAGACTTTAACTATTAATAGTGTACGTTTTGCTTTGCTGAGCGTATTCACCTC TTAAAGGAATTTGTGGTTTTTAACCGCAAGAAATTGAGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTT AGATGTTCCGGGCGCACGCGTGTACAATGATGGTAGCAGCGTGATTGTCCTTTTCCGAGA GGAATTTGGCAAACAGTTGAGATATTATTATGGCTGGAATTGAGTGTGAAATTTCTCTCATG AACGAGGAATCCAAGTAAACGCGAGTCACTAACTCGCATTGATTACGTCCTGCCCTTTGTA CACACCGCCGTCGCTGCCCGGACTGAGTACTTCGAGAAACTACGGACTGCTAAAGTTG AATGCCTTGTGATTCTCTTCGATGGAAAGTAGTTTTATCGCAGTGGCTTGAACCGGGCAAAA GTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGTGAA</p>
--	---

Anexo 2. Padrões moleculares novos obtidos para as espécies percentes à família Aphelenchoididae do gene ribossomal 28S.

Gênero Aphelenchoides

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<p><i>Aphelenchoides besseyi</i> <i>consenso 2</i></p>	<p>CACGTATCAAGCAGGTAAGGAGGGACTATAAAGTCTAGTAGTAGAGAGGGAATAGAGCGG GATAACGCAGCACAACCCATATACTACTCATATCTCCCCCTTTACAAGTACCCGTGAGGG AAAGTTGAAAAGCACTTTGAAAAGAGAGTGCAAGAGAACGTGAAACCGATATAATGGAAGC GAATGGAGCTGACGTATCTTGTGCGTATTCAATCCCGCGACACTGCAATCGCTTCGACGACA TTCCGAAGGTTGTCTAGGAGTGTTGTTGTGTGCTCGTTGGATGCATTTGCGTGCGGAGTGC GCCGAGTGGGTCGATGTCGCTGCCGGAAGGGCGTATAGAGGACTCGGGTTTTCCGACTCGAG AATCCTGTGCGTTCGGATAGCAGGTGATGTTGGCTCGCTGTTGTGGAGTGCGGGTGAATTCG CGATGGGCGTCGGTTGTGAGTTGTGGTTGCGGATGGCACATGTGCTTCCGTTTTCCGCGCCT ACGATCGCGTTCGTTGCCCGGCACTCGACTCGGTGTATAGTCGGTCACCCATTCGACCCGT CTTGAAACACGGACCAAGGAGTTAAGGTGTACGCGAGTCATTGAGCTGCGAAACTCAAAG GCGTAATGAAAGTGAGACATTGGATGTCGACGATGTGAGCGTTGGCGTTTTGACGTCGCGGC GCGCAACATCGCCCCGTGACTAGGACTTGTCTGTTGCGGAGGTTGAGCGTACGCTTTGAGA CCCGAAAGATGGTGAACATGCCCCGAACAGGATGAAGCCAGAGGAAACTCTGGTGAAGTC CGAAGCGTTCTGACGTGCAAAATCGATCGTCTGATTTGGGTATAGGGGCGCAAGACTAATCG AACCATCTAGTAGCTGGTTCCCTCCGAAATCA</p>
<p><i>Aphelenchoides fragariae</i> <i>consenso</i></p>	<p>AAGAGAGTGCAAGAGAACGTGAAACCGTTATAGTGAAGCAGATAGAGTTGACGTATCTAG TATGTATTCAGTTTTTCGGGCTGGCAATTTGGGTTGTAAAGTTCGCAAGTCTTTTATTCTCA TTGTTGTTTATAGTTTGTAAATGCATTTGCATACCGAGTGCGCCGAATCGGTTGAATTTGCCGTT TGATAATTTTATAGAGGACTAACTTGTGGAAACCTGTAACCTTTATGACGGATGAATTTGG CTGTCAAATTTAGTTGGTTTTTCGTGATAAATAGTTGTGAATTTGGAGTTGTTTTGTACGATGC ATGCGTTTTGCAGTTATGGCTTTAATTCACAACCCCTTATTGCTCTGCTCTTATTTCGGTGT GTCAATCACCTACCTGACCCGCTTGTAAACACGGACCAAGGAGTTTAAAGGTGTACGCAAGTC ATTGATTGTTTAAAGTCATAGGCGTAATGAAAGTGGGACACTTGGTGTCTGTGATGTGAGCTT TTTTGTTTTGACGAACTAAGCGCAACATCGACCCATGACTAGGGCTTGTCTGTTGTGGAGT CTGAGCGTACGCTTTGAGACCCGAAAGATGGTGAACATGCCCCGAACAGGACGAAAGTCAGA GGAAACTCTGATGGAAGTCCGAAGCGGTTCTGACGTGCAAAATCGATCGTCTGATTTGGGTAT AGGGGCGCAAGACTAATCGAACCATC</p>

<p><i>Aphelenchoides stammeri</i></p>	<p>AAGAGAGTGCAAGAGAACGTGAAACGTGAAACTGAAACAATGAAACCGGATGAAGCCGAC GTATCTAGTGCATATTCAGTTGATTGGCTGGCTGATCTCTTTTTGGGTATTCCGCAAGTTGCT CGATTTGAGTTGTTGGTTGGTTTGTGCGATGCATTTGCGTGACAGAGTGCCGGTGAGTCGGTTGAT GCCGTCGATTGAAGTTGCTTGAGAGGACGTGCTTTTCGGAGTTGCGAAACCTTTTGCTTCGGA TGTTGATTGGTGTAGCCGGATTTGTGACACAGGCCCGAGCGGGTCTGGTTGGCTGTTGAGG CTGGCTTATGGTGGACGCATGCGTACGCTGTTGACGGTTTTGACGGTTGAGCTGGATTCTCT GTGTTCATCTCCTGTATAGTTGGTCACTCATTGACCCGCTTTGAAACACGGACCAAGGAGT TTATGGTGCATGCGAGTCATTGGGCTCTTTGAAACCCATAGGCGTAATGAAGTGAAATT GTATGGATTAGATGTGATCGGTTGTGTGTTTCGGCATGCTCCGAGCAACATCGCCCCATTC GAGAACTTGTCTGTTGTGACGGCTGAGCATGCGCTATGAGACCCGAAAGATGGTGAACAT GCCTGAACAGGATGAAGCCAGAGGAAACTCTGGTGAAGTCCGAAGCGGTTCTGACGTGCA AATCGATCGTCTGATTTTGGTATAGGGGCGAAAAGACTAATCGAACTATCTAGTAGCTGGTTC CCTCCGA</p>
---------------------------------------	---

Gênero Bursaphelenchus

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<p><i>Bursaphelenchus antoniae</i> <i>consenso</i></p>	<p>AAAGTTGAAAAGTACTTTGAAAAGAGAGTGCAAGAGAACGCGAAACCGGTGTAATGGAAGC ATATGGAGTTGACGTATCTGGTGCGTATTAGTTGTTGGACGTTGCGATTGCTGCGTATGTCG TTCCGCAAGGTCGGCTGCGTGGTATTGTCGTGGCGTTTGGCGATGCATTTACGTACGGAGTGC GCCGAGTTGTGCGACGATGTC AATCGAGGCCGTTTCGAGAGGACGTGGGTTTCGGCCCGTGAA ACCTAGTGCGGTGGAGGTTGGTTGTTGTTGCGCAGCTTCGTGGAGGTGCGGGTTTTTCGCGCG ACGGTTAGTCGATCCGGCCGGTTTGTGTTGTACGCATGCGTGCCGCACTTATGGGTTGTGTCG GTTGGTCGGCGTGCACTGCGCTCTTCTCGGTGTATAGTCAATGACCCATTTGACCCGCTTGA AACACGGACCAAGGAGTTTATGGTATACGCGAGTCAATTGGGCTTTCGAAACCCAAAGGCGTA ATGAAAGTGAGACCTTACTGGTTTGAATGTGAGCGGTTGTTGTTTCGACGCGGCCGCGCAA CATTGCCCCGTTTCGTGGACTTGTCTGTGCGGAGGTTGAGCGTATGCTATGAGACCCGAAA GATGGTGAACATGCCTGAACAGGATGAAGCCAGAGGAACTCTGGTGGAGGTCCGAAGCG GTTCTGACGTGCAAATCGATCGTCTGATTTTGGTATAGGGGCGCAAGACTAATCGAACCATC TAGTAGCTGG</p>

<p><i>Bursaphelenchus tokyoensis</i> AB430446</p>	<p>AAAAGTACTTTGAAAAGAGAGTGAAGAGAACGTGAAACCGGTGTATGGAAACGAATGGA GTCGACGTATCTGTTGGGTATTCAGCCGGTTGCGGGCCCAATTGAGGTGTGTGTTCTCGC AAGATGCGCCCGCTTTATTGGTTGCGGTCGTGGTCGGTTCATTTGCCGAAGAGTGCGCCG AGTTGTGTGGTTTTGCCGAATGAAGCGCGTTTAGAGGGCCGCTCCTTGTGGCCGGTAGCC TGTGCGTGTGAGTTTGGTTGAGGCTGCGCAGCTTTGTGGAAGACGTGGGTTTTTCGCGTGCA GTCGTGCCGATCGTTCATGCTTGCCTGTTGCACATGTGTAGCGCGTTTGTGTGGCGGTGGGC GCGGTTGTGTGCACTACGCTCTTCTCGGCGTGCAGTTGATCACTCATTGACCCGCTTTGAAA CACGGACCAAGGAGTTTATGGTATGCGCGAGTTATTGAGTTTGAACGAAGCTCAAAGGCACA ATGAAAGTGAGACTGTATTGTATTCAACGTGAGTGGGTGCGGCATTCTGTCGGCCCAAGCAA CGTTGCCCGTTTCGAGGACTTGTCTGTTGCGGAGGTTGGGCGTATGCTATGAGACCCGAA AGATGGTGAACATGCCTGAACAGGACGAAGCCAGAGGAACTCTGGTGAAGTCCGAAGC GGTTCTGACGTGCAAATCGATCGTCTGATTTTGGTATAGGGGCGCAAGACTAATCGAACCAT CTGGTAGCTGGTTTCTCCGAAGTTCCCTCAGGATAGCTGGTGCACATGATTAACAGATATA CTCGGTAAGCGAACGATTAGAGTTCCTGGGATGTATTATCTCAGACTATTCTCATACTCTA AATGGTTATGTTGTTGTCGTTTCTAATTGAACGTGCACTTTGATTGTTGTGCTCCAAGTGGGC CATTTTTGGTAAGCAGAACTGGCGATGTGGGATGAACCAAACGCGGAGTTACGGTGCCTAAC TATTCGCTCATGAGACCCCATGAAAGGTGTTGGTTGATATAGACAGCAGGACGGTGGCCATG GAAGTCGGAATCCGCTAAGGAGTGTGTAACAACTACCTGCCGAATCAACTAGCCCTGAAAA TGGATGGCGCTTGAGCGAATGACCTATACTCTGCCGTTGTTGAAACTCGAAAGAAATCTCTC AACGAGTAGGAAGTACGTTGTGATGGCGTTGAATTGTGGGCGTGAGCTCGAATGGAGCCTTA TGAGTGCAA</p>
---	---

Gênero *Cryptaphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<p><i>Cryptaphelenchus varicaudatus KY828211</i></p>	<p>TGGAAGCGGATGAAGTCGCCGTATCTAGTGCCTATTAGTTGTTGTGGGCGTGGATCGCTGG TGTGTCATTCGCAAGGTTGGCTAGCCGGTGTGCTGCGTCTGCGGCGATGCATTTGCGTAC AGAGTGAACGGGTCGTTGAGGAGCGTGGAAATGAAGCGCAGTTTAGAGGACCAGCTTCGGT TGGAACCTGGATTGTGCCGAGAGCCATTGGTCTTCTCGGTTTATGAGGTTTCATGGCCTACG ACTCGGCTATGTTGTTCTATGGGTTTGGAGTGAACACATGTGTTGCTTCTTATGCTGTGG AATAGGCGTGGTGGTGTCACTTGAATCTTCTCGTTGATTGGCGATCACTTATCCGACCCGT CTTGAAACACGGACCAAGGAGTTTATATTACACGCGATTTATTGAGTGTAAAACTCAAAG AGTAATGAAAGTGAATAACTGTCTTCGGACAGCAACGTGATTGTTGGCTCATTCTGGGCCA GCACGCAACGTTGCCCATTCCAAAGGCTTGCCTTGGGTTGGAGGTTGAGCGTGTGAAATGA GACCCGAAAGATGGTGAACATGCTTGAACAGGATGAAGCCAGAGGAACTCTGGTGGAAAG TCCGAAGCGGTTCTGACGTGCAAATCGATCGTCTGATTTTGGTATAGGGGCGAAAGACTAAT CGAACCATCTAGTA</p>

Gênero *Ektaphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<p><i>Ektaphelenchus oleae KM370169</i></p>	<p>ACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGCACTTTGAAAAGAGAGTGAAGAGAACGTGAAA TCGATATAATGGAAGCGAATGAAGTCGACGTATCTAGTGCCTATTAGTTGTTGCGGAGGCT CGAGTGTGCGTTGTGCGAATTCGCGAGGTTTCGCCGGCGGCGGTTTCGGCTTTCGGGGCGA TGCATTTACGCGCAGAGTGCCTGAGTCCGCTGGTGTGTCGGTGGGATGCTGTTCTGCTCAA GAGGGCGCGCTCTCACGGAGTGTGATCCTTGGCGTTGCGGATGCCGATTAACGCCGGCTG GAGAGTTGCCGAAAGCATTGGCTTACGAGCGTGCCTTCCAGCGGTTGTTGTTTCTCGTGA GGGGCGCATGCGCACTTCGCTTGGGCGGCGGCGGTTGGGCGTTCCGCTACTTTGCTTTTCTC GCCGTATAGTCGGTCACTCATTGACCCGCTTGAACACGGACCAAGGAGTTTATGGTACA</p>

	<p>CGCGAGTCATTGAGTCTGCAGAACTCAAAGGCGTAATGAAAGTGAGGACTGTGTCCCAAC AGTTGATTGATACGAGCGTTGTGCGGTCCGCGGAGCGCCGGCGCGAGTATCTCCCCATTCT GGAGCTTGCTCTGGTGTGGAGGAATAGCGTGTGCAATGAGACCCGAAAGATGGTGAAGTATG CCTGAACAGGATGAAGCCAGAGGAACTCTGGTGAAGTCCGAAGCGGTTCTGACGTGCAA ATCGATCGTCTGATTTGGTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCATCTAGTAGCTGGTTCCT TCCGA</p>
--	--

Gênero *Ficophagus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<i>Ficophagus fleckeri</i> LC208749	<p>AAAAGCACTTTGAAAAGAGAGTGCAAAAGACCGTGAAACCGTTATAGTGGAAAGCAGATGGA GCCGACGTATCCAGCGCGTATTTAGCCATTGTCGAGCGTGATTGCGCTGTTAGGGGTTCTGCA AAAGTACCGAGTGGGCGTTGTTGCGTACGGCGAGTGGTGCACCTGCGTGCAGAGTGCGCCGA ATCAATAGGGCCTGTCGCTCGAGGTTGTTTGGAGAGACCAATCTTTGGGTTTGGAAACCTC GACGAACGGGCGAGCGGTGCGGTGCGATTGCCATGCTTAAGACGTGCCGATTCTGAGGTTGTT GCTCAAGTTTGGTGTCTTAAATGGGCGCATGCGCTAGTTTGGAAAGGATTGAAGTTGTGC GGCAGTCTCTGCAGATGTATTCGGTGTGTAGTCGGTGACCCATTGACCCGCTTGAACACAG GACCAAGGAGTTTAAAGTGTGTGCGAGTGATTGAGTGTAAAACTTAAAGCGTAATGAAA GTAAGACACTTGTGTCTGTGATTGACCCGAACGAGTTTTACTTAATTGGGGCAGTATCGAC CCATGACTAGAACATGTCTGTTGTGGAGTTTGGAGCGACGCTTTGAGACCCGAAAGATGGT GAACTATGCCCGAACAGGA</p>
<i>Ficophagus fleckeri</i> LC208759	<p>AAAAGCACTTTGAAAAGAGAGTGC AAGAGAACGTGAAACCGTTATAGTGGAAAGCAGATGGA GCCGACGTATCCAGCGCGTATTTAGCCATTGTCGAGCGTGATTGCGCTGTTGGAGTTCTGCA GAAGTCTTCGGCGGGTATTGTTGCGTGCAGAGTGGTGCACCTGCGTGCAGAGTGCGCCG AATCAGTGGGCTTGTGCTCGAAGTTCGGCTTGGAGGACCGAGTTCATTGAAGTCGGAAA CCTCGACGAGCGGTGGCAGTTGAGTCCGACTGTGATGCCTAAAGCCTGTTGGTTCTGGGGC AATTGTGTGAGTGGTGTGCTGCTCGAATGGGACCGATGCGTCACTTTGGGTGGTGCCTCATT TGTGTGCTGTCTTAGCAGGATTCGGTGTGTGGTGGTAAACCCATTGACCCGCTTTGAA ACACGGACCAAGGAGTTTAAAGTGTGCGCGAGTATTGGGTGTCGAAAACCTCAGAAAGCGTA ATGAAAGTGGGACACTTGGTGTCTGTGATGCGACCCGACCGAGCTTAATTGTTGCGACGGGG CAGCATCGACCCATGACTAGAACATGTTCTGTTGTGGAGTCTGAGCGCATGCTTTGAGACCC GAAAGATGGTGAACATGCCCCGAACAGGACGAAGTCAGAGGAACTCTGATGGAAGTCCGA AGCGGTTCTGACGTGCAAATCGATCGTCTGATTTGGGTATAGGGGCGCAAGACTAATCGAAC CATC</p>

Gênero *Laimaphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<i>Laimaphelenchus suberensis</i>	<p>CAAAGTACTTTGAAAAGAGAGTGC AAGAGAACGTGAAACCGACATAATGGAAGCGGATGGA GCCGACGTATCGTGTGTATTCAATTGCACACGGTTGCATTCTCTGGTTTGGCATTCCGCA AGGTTGTCGATTGGATGTGTTGTTGCTTGGTGAATGCTTTTGAAGCGGAGTGCATCGAGT GGGTTGATTGCGCTGTGGAAATCAGTTTAGAGGACTTTCTTCCGGGTTAGAACCCTGGATTG GTGGATAGCAGATGTGGTTGACTTGTGTCAAAGGCTGGTGAATTCGCGGTTACAGCTGAGG ATGTTGGCTACTAGTAGGGAACACATGTGCTCTTTGCTCTTAGTTGATGTCTTTGGTGTGTAC TGCCCCGTGCTTCCGACTCGATGTTCAAGTTGGTCAACCATCCGACCCGCTTGAACACGGACC AAGGAGTTTACGGTGTACGCAAGTCAATGGGCTATCGAAACCCAAAGGCGTAATGAAAGTG AGACATTTATTGTCTGTGATGTGAACAATTGTTGTTTCGATGACTTTTGTGCAACATCGCCCC ATGACTAGGGCTTGTCTGTTGTGGAGGTCGAGCGTACGCTGTGAGACCCGAAAGATGGTGA</p>

	ACTATGCCCGAACAGGATGAAGCCAGAGGAACTCTGGTGAAGTCCGAAGCGTTCTGAC GTGCAAATCGATCGTCTGATTTGGGTATAGGGGCGCAAGACTAATCGAA
--	---

Gênero *Martininema*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<i>Martininema baculum</i> <i>consenso</i>	AAAAGCACTTTGAAAAGAGAGTGAAGAGAACGTGAAACCGTTATAGTGAAGCGGATGGA GCCGACGTATCCAGTACGTATTCAGTTGTCGCCTGGCGCAGATGTTTTATTGTTAGTTCTGTA AAGTCTACAATGAGGTTATTTGCGTTAGTTGGCAATGCACTTGCCTACAGAGTGCGCCGAAT CGGTTGGTTGTGCTGTTAAGAGTAACATAGAGGACTAGCTTGTAGAACCTGTGTGACTG GAGAACAGATGCGGCTGGCTGTAGAGAGGTTGGTAACTCGTGGTTGGCTGTTGGAGTTAGG TTGGCTCTGTGTGACGCATGCGTTGCGCATAGGTTGATTTGGTTGCAATGGTCGATTGCTCA ACTTCAAATTCGGTGTCTAGTTGGTACCCATTCGACCCGTTGAAACACGGACCAAGGAG TTTAAGGTGTGCGCAAGTCATTGAGTGTGAAAACATAGGCGTAATGAAAGTGGGACACTT GGTGTCTGTGATGCGACCTGCTGGAGTCTCGATTCTGCGGGGCGAGCATCGACCCATGACTA GGACTTGTCTGTTGTGGAGTCTGAGCGTACGCTTTGAGACCCGAAAGATGGTGAACATATGC CTGAACAGGACGAAGTCAGAGGAACTCTGATGGAAGTCCGAAGCGGTTCTGACGTGCAAA TCGATCGTCTGATTTGGGTATAGGGGCGCAAGACTAATCGAACCATC

Gênero *Pseudaphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<i>Pseudaphelenchus</i> <i>scheffrahi</i> AB971164	AAAAGCACTTTGAAAAGAGAGTGAAGAGATCGTGAACCAATATGAAGGAAACAAACGTA GCCGACGGATTAGGTATGCATTCATCTATGGTCTTCGGATTGTTGGTGCCTTGTACTGGTT GCGCTGGGTCTATCGATGCTGTTGTTGATGGGGGCAAGTGTGGACCGGCTTGTACGGATAC CTGTGCTCTTGGATGCAATAGTGTGGTGGGTTGTTGAGGTTGGCGTTTGTGGCTGCGTG TGGGAGTGCATTGACCTTTGGTAGCACATGTGTTGCTGTARAGTGTGGTGTGCATCTGTG CGTAGTTGCTCGTTGATCTTCCCGGTGTCTAGTTGGTGATACGTTTGACCCGCTTGAACAC GGACCAAGGAGTTTAAAGTATGCGCGAGTCAGAGAGTGGTGAACCTAACGGCGTAATGAA AGTGAATAGCGTATGTTATGTCGATGTGATGGTGGGCTTGCCTACTCGCAGCATCGCCCAT GCTGGAACCTCGGTTTGGTATGGCGGTTGAGCGCATGCTTTGAGACCCGAAAGATGGTGAAC TATGCTCGAACAGGATGAAGCCAGGGGAAACCCTGGTGAAGTCCGAAGCGGTTCTGACGT GCAAATCGATCGTCTGATTTGAGTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACATC
<i>Pseudaphelenchus sui</i> AB971167	AAAAGCACTTTGAAAAGAGAGTGAAGAGATCGTGAATCAGTGTAAAGGAAACAAACGTA GCTGACGGATTAGGTATACATTCATCTATGGCCTTCGGGTTGTTGGTGCCTTGTACTGGTT GCGCTGGGTCTATCGATGCTGGCGCTTGAAGTGAATAAGTGTGGAACGGCTTGTCCGGATAC CTGATTTGATGGAAGGTGCTTGGTGTGGTGGAGCAGTTCGGATTAGCGTTTGGCGCCGCAT GTGACTGTGCATTGGTATTGATGGTAGCACAGGTGTTATCTTGATTCTGGTATGCGGTTGTG TGTGGTTGCTCGTTGATCTTCCCGGTGTCTAGTTGGTTTTACGTTTGACCCGCTTGAACACG GACCAAGGAGTTTAAAGTATGCGCGAGTCAGAGAGCGGTGAACCTACGGCGTAATGAAA GTGAATAGCGAAAGTTATGTGAACGTGATGGTGGGTTCTGCTACTTGAACGTTGCCCCAC GCTTGAGCTTCGGCTTGGTGTGGCGGTTGAGCGTACTTTAAGACCCGAAAGATGGTGAAC TATGCTCGAACAGGATGAAGCCAGGGGAAACCCTGGTGAAGTCCGAAGCGGTTCTGACGT GCAAATCGATCGTCTGATTTGAGTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACATC

Gênero *Sheraphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<i>Sheraphelenchus entomophagus consenso</i>	ACAAGTACCGTGAGGGAAAAGTTGAAAAGTACTTTGAAAAGAGAGTGCAAGAGAACGTGAAA CCGGAGTAATGGAAGCGGATGGAGCTAACGTATCTAGTGCGTATTAGCTGTCGAGATTGTC AATCGCCGGAGTTTGTATTCTGCAAAGTTGCTGCTCGGTGTTGTTGGCGGTTTTGTCGGTGC ATTTACGTACGGAGTGCCTGGGTTGTTGATGTTGTCGAACGAAGCGAGTTAAGAGGACGC GAGTTTCGGCTTGTGAAACCTTGGCGCTGAGTTCGGTTGACGTTGGATAATTTTGTGGAGT CGTCGGTACAGACGTGCTTGGCGTTGATGTTGGTTGCGGTTTAGTTGTACACATGTGTGCGT TCTTTATCGTGGCTGACGTTGGTGTGAGTGCTCGGCGTTCTCCCGGTGTATAGTTGGTGAC CTATTCGACCCGTCTTGAACACGGACCAAGGAGTTTATGGTATGCAGGAGTCATTGGGCTTT GAAACCCAAAGGCGTAATGAAAGTGAGACGTTACTCGTTTTAATGTGAGCATGTGTTTTCGA ACGCGTGTGCAACATTGCCCGTTTTGAAAGATTTATCTTGTTCGGAGGTTGAGCGTATGCTA TGAGACCCGAAAGATGGTGAACATGCTGAGCAGGATGAAGCCAGAGGAAACTCTGGTGG AAGTCCGAAGCGGTTCTGACGTGCAAATCGATCGTCTGACTTTGGTATAGGGGCGCAAGACT AATCGAACCATCTAGTAGCTGGTTCCCTCCGA

Anexo 3. Padrões moleculares novos obtidos para as espécies percentes à família Aphelenchoididae do gene mitocondrial COI.Gênero *Sheraphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<i>Aphelenchoides besseyi consenso 2</i>	GGTGGTTTTGGTAATTGACTCTTACCCTTGATATTAGGTTCTCCTGATATGAGGTTTCCTCGTT TAAATAATTTGAGGTTTTGATTATTGCCTGTAGCTCTATTTTTGCTTTTAGATTCTAGTTTGT AGATATGGGTGCAGGAACAAGATGGGTAGTTTATCCTCCTTAAAGAACTCTTGGTCATCCTG GAAGAAGAGTAGACTTAGCTATTTTTAGGCTTCATTGTGCAGGGATTAGTTCTATTTTAGGTG GAATTAATTTTATGAGTACAACAAAGAAATTTACGTAGTAGTTCAATTTCTTTAGAACATATAA GTTTTATTGTTGAACTATTTTTGTAACGTTTCTTTTAGTTTGTCTTACCTGTTTTAGCT GGAGCTATCACTATATTGTTAACGGATCGTAATTTAATACTTCTTCTTTGACCCAAGGATG GGGGTAACCCCTTAAATTTATCAACATTTGTTTTGGTCTTTGGTCACTCGAAGTTTATATTT TAAATTTACCAGCTTTTGGGATTATTAGTCAAAGAACACTTTTTTAACTGGTAAAAAAGAGG TTTTTGAAATTTAGGTATAGTTTACGCAATTTAAGAATTTGGTTGATTGGTTGTGTTGTGG GCTCAT

Gênero *Ficophagus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<i>Ficophagus cf. centerae consenso</i>	TGAATATTGCCAATTATACTTGGTTCCCGGATATGAGTTTTCCTCGTTTAAATAATTTAAGTT TTTGATTGTTCCTGTGCTTTAATTTTATTAATTGATTCAGGTTTTGTGGATTTCAGGTTGTGG AACTAGTTGAGTAGTTTATCCTCCTTAAAGAACTTTAGGTCATCCTGGGTGCAGTGTGATTT AGCTATTTTTAGTCTTCATTGTCTGGTGTAGTTCTATTTTGGGTGGTATTAATTTTATGACT ACGACTAAAAATTTGCGTAGTAGATCTATTTCTTTAGAGCATACTAGTCTATTTGTTTGAAC ATTTTTGTTACTGTTTTTTGTTAGTTTTATCTTTACCTGTTTTAGCAGGGGCTATTACAATATT ATTGACTGATCGTAATTTCAATACTTCTTTTTTTGATCCTAGAATAGGTGGGAATCCTTTAATT TATCAGCATTTATTTGATTTTTTGGTCATCCTGAGGTTTATATTTAATTTCTTCTGCTTTTTGG

	TATTATTAGCCAAAGTGTAAATTTTTGTTACTGGTAAAAAAGAGGTTTTGGTTCTCTTGGTAT GGTTTATGCTATTTAAGTATTGGTTAATCGGATGTGTGGTTTGAGCTCATCATATATACACT GTAGGTATAGATTGGATTCT
<i>Ficophagus fleckeri</i> consenso	TGAATAGTACCTTAATATTAGGTGCTCCTGATATAAGTTTTCCCTCGTTAAATAAATTAAGA TTTTGACTTCTCCTGTTCTTTAATTTAATTGTAGTTCTAGTTTAGTTGATAGTGGATGTGG TACAAGTTGAGTAGTTTATCCTCCTTAAGTACTATTGGTCATCCTGGGAGAAGAGTAGATT AGCTATTTTTAGTCTCATTGTGCTGGAATTAGTTCTATTTAGGTGGTATTAATTTTTAACT ACTACTAAGAATATACGTAGTAGTTCTATTCTATAGAACACACTAGTTTGTGGTTGGACT ATTTTTGTTACTGTTTTTTAATTTTATCTCTCCTGTTTAGCAGGTGCTATTACTATATT ATTAACGTATCGTCATTTAATACTCTTTTTTGATCCTAGAATAGGAGGTAATCCTCTTATT TATCAACATTTGTTTGTATTTTTGGTCATCCAGAAGTTATATTTGATTTACCAGCTTTTG GTATTGTTAGTCAGAGAACTCTTTAATTAAGTGGTAAAAAAGAGATTTTTGGGGCTATTGGTA TGGTTTATGCTATTTTAGTATTGGTTGATTGGTTGTGTTGTTGAGCTACCATATGTATAC AGTTGGTATAGATATTGATTCT

Gênero *Laimaphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<i>Laimaphelenchus suberensis</i> consenso	GGTAATTGATTATTACCTCTTATATTAGGTTCTCCTGATATAAGTTTTCCCTCGTTGAATAAATT TGAGATTTGGTTACTTCTGTCGCCCTTATTATTATTATTGGATTCTAGTTTTGTGGATATAGG GAGAGGAAGTGGTGGTAGTTTACCCACCTTTAAGTACTTTAGGACATCCTGGTAATAGAG TAGATTTAGCTATTTTTAGTTTACACTGTGCAGGTGTAAGTTCTATTTAGGTGGAATTAATTT TATAAGAACAGTTAAAAATCTTCGTAGAAGTTCTATTTCTTTGGAGCATATAAGTTTATTTGT TTGGACTATTTTTGTTACTGTGTTTTATTAGTTTTATCTCTCCTGTTTTAGCTGGAGCTATTA CTATATTATTAAGTATCGTAATTTAAATCTTCATTTTTGATCCTAGGATAGGAGGAAATC CTTTAATTTATCAACATCTTTTTGATTTTTGGACATCCTGAGGTTTATATTTAATTTTACCT GCTTTTGGTATTGTTAGTCAAAGTACTTTATTCATTACAGGTAAGGAGGAAAGTCTTTGGAAAT TTAGGGATAGTTTATGCTATTTGAGAATTGGTTGATTGGTTGTGTTGTGGGCTCATCAT ATGTATACGGTTGGAATAGATTGGATTACGTC

Gênero *Martininema*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<i>Martininema baculum</i>	TGACTATTACCTTTAATAAATTGGTGCTCCTGATATAAGTTTTCCCTCGTTTGAATAAATTGAGTT TTTGGTACTTCTGTTCTTTTATACTTTTACTTTTATCTGGTGTGTAGAAATTAGGTTGTGGT ACTAGTTGGGTATTTATCCTCCACTGAGAACAAAGGGTCATCCTGGTAGTAGTGTAGACATT GCTATTTTTAGTTTACATTGTGCTGGAGTCAGATCTATTTAGGTGGTATCAATTTTATAGTTA CTACAAAAAATTTGCGTAGGGGTTCTATTTCTTTAGAAAATATGTTGTTATTTGTTGAACAA TTTTTGTTACTGTTTTTTAATTGGTTTTATCTTTGCCTGTTCTGTGGTCTATTACAATATTG TTAACAGATCGTAATTTAAATCTCTTTTTTAAACCAAGATTGGGGGTAATCCTTTAATTT ATCAACATTTGTTTTGATTTTTGGTCATCCTGAGGTTTATATTTAATTTTACC GGCTTTTGGT GTTATTAGTCAGAGTCTTTATATTTGACAGGTAAGGAGGTTTTTGGTACTCTTGGGATG GTTTACGCTATTCTAAGTATTGGTTAATTGGTTGTGTTGTGAGCTCATCATATGTATACGG TAGGTATGGACTTAGATTCT

Gênero *Pseudaphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<p style="text-align: center;"><i>Pseudaphelenchus scheffrahnii</i> AB971165</p>	<p>AATACTTCCTATAAATTGGGGAGTCCAGATATAAGTTTTCCTCGTTTGAATAATCTTAGATT CTGATTATTACCGGGTCCCTTCTCTAATTACTATAACCTGTTTTGTAGATAGGGGTTGTGGT ACGAGCTGGGTAGTATACCTCCTCTAAGGACCCTTGGGCACCCTGGTGTTAGTGTAGATTG GCAATTTTGTACATTTTGTCTGGTGTAGTCTATCTTGGGAGGTATTAATTTTATTGTGA CTGCAAGAATCTACGGAGAGGGAGGATCTCTGTGAACACCTTAGTTTGTGTGGTCTT TATTAGTACTGTTTTCTTTAATCTTTCTTTGCTGTCTTAGCTGGTGAATTAATTAATCT CTTACAGATCGAACTTAATACTTCCTTCTTTGACCCTAGTATGGGTGGAATGTTTTAATTT ATCAACACTTATTCTGATTTTTGGTTCATCCTGAGGTATATAATTTAATTTGCCAGCTTTGG GGTAGTGAGTCATTGTAGTCTTTATGTTAGAGGTAAGAAAGAAAGTATTGGGTCTTTGGGTAT GGTTTATGCTATTTAAGGATTGGTTAGTGGGTTGTGTGTTGGGCACACCACATATACAC AGTCGGGATAGATTTAGACTCT</p>
<p style="text-align: center;"><i>Pseudaphelenchus sui</i> AB971168</p>	<p>GATGTTGCCTATAAATTAGGGAGTCCAGATATAAGGTTTCCACGCTTAATAATTTGAGCTT TTGGTTATTGCCGGGATCTCTGGTTTTGATTACTATGACTTGTTTGTGACAGGGGTTGTGGT ACTAGTTGGGTAGTTTATCCCCCTAAGTACACTAGGGCACCCAGGGAGAAGAGTAGACTT GGCTATTTTGTAGTACATTTTGCAGGTGTCAGTTCTATTTTAGGAGGCATTAATTTTATTGC ACTGCAAAAAATCTACGAAGGAGAAGGATTCTGTAGAACATTTAAGGTTATTTGTTGGTCT CCTATTAGTTACAGTTTTTTGTAAATTTGTCTCTTCTGTGTTGGCCGGGGCTATTACTATA CTTTAACTGATCGAAATTTAATACTTCTTTTTTGTATCCTAGTATGGGGGTAATGTATTGA TTTATCAACATCTTTTTGGTTTTTTGGACACCCTGAAGTTTACATTTAATTTGCCCGCTTC GGGGTAGTAAGACATTGTAGTCTACGTTAGGGGTAAGAAAGAGGTTTTGGCTCCTTAGG CATAGTTATGCTATTTAAGAATTGGTTAGTGGGTTGTGTGTTGGGCTCACCATATGTA CACTGTAGGTATAGATTTAGACTCT</p>

Gênero *Robustodorus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<p style="text-align: center;"><i>Robustodorus arachidis</i> LC369498</p>	<p>GTTGCTTCCTTAATATTGGGGGCGCCGATATAAGGTTTTCCTCGTTTAAATAATCTTAGGTT TTGGTTGTTGCTGTTCTTTACTTTTTATTGTTGTTGGCTGGGTTTTAGATATAGGTTGTGGT ACAAGGTGGGTGTTTTACCCCTCTTAGGACTATTGGCACCCGGAATAGGGTAGACTT AGCTATTTTAGGCTACATTGTGCGGGTGAAGGCTATTTGGGGGGGATTAATTTATAAC TACCACGAAGAATTTACGAAGAAGTGCATTTCTTTAGAACATATAAGTTTATTTGTTGGAC AATTTTGTACTGTTTTCTTTGGTTTTATCTTTACCTGTTTAGCGGGGCGATTACGATA CTTTAACAGATCGTAATTTAATACTGCTTTTTTGACCCGGGGCTGGGGGTAACCCTTTA ATTTATCAGCATTTATTTGGTTTTTTGGTTCATCCGGAGGTGATATTTAATTTGCCTGCTTT TGGAATTATTAGACAAAGAACAATGTTTTAACGGGGAAAAAGAGGTTTTGGTATGTTGG GTATAATTTATGCTATTTAAGAATTGGTTAGTGGTGTGTGTTGTTGGGCGCATCACATAT ATACTGTTGGAATAGACTTAGACTCTC</p>

Gênero *Ruehmaphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<i>Ruehmaphelenchus juliae</i> LC031814	ATTAGTACCACTTATATTAGTTTCACCTGATATAAGATTTCACGTTTAAATAATTTAAGTTTT TGTTATTACCAACATCTTTATTTTATTATTAGATTCATGTTTTGTTGATATGGGGCTGGTA CCAGATGAACAGTTTATCCTCCTTTGAGTACTTTGGGGCACCCAGGAGAAGGGTGGATATG GCTATTTTGTCTTCATTGTGCTGGTGAAGTTCAATTTTAGTGGAATTAAATTTATATGTA CTACAAAAAATTTACGTAGTAGTTCTATTTCTTTAGAACATATAAGTTTATTTGATGAACAA TTTTTGTACTGTTTTCTTTTAGTATTATCTTTACCTGTTTTAGCGGGGGCTATTACTATATTA TAACTGATCGTAATATTAATACATCTTTTTTTGATCCTAGAAATAGGTGGGAACCCTTAATTT ATCAACATTTATTTGGTTTTTTGGGCATCCAGAAGTTTATAATTTAATTTACCAGCTTTGG AATTGTTAGGCAAAGTACACTTTATTTAACAGGTAAGAAAGAAAGTTTTTGGTCTTTAGGTAT AGTGTATGCAATTTAAGAATTGGATTAATTGGTTGTGTAGTTTGGGCACACCATATATACAC TGTTGGTATAGATTTAGATTCT

Gênero *Sheraphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<i>Sheraphelenchus entomophagus</i>	CCTACTATGATTGGTGGTTTTGGTAATTGATTAGTGCCTTAAATATTAGGTTCTCCTGATATAA GTTTTCTCCTGTTTAAATAATTTAAGGTTTTGATTATTACCAACTTCTATAATGTTATTGTTAGA TGCTTGTTTGTTGATATAGGTAGAGGTAAGTTGAACCGTTTATCCTCCTTAAAGAACAT GGGGCATCCTGGTAGAAGGGTAGATTTAGCTATTTTTAGGCTTCATTGTGCAGGTGAAGATC TATTTTAGGTGGAATTAATTTATGTGTACAATAAAAAATTTACGTAGAAGTTCAATTTCTTT AGAGCATATGAGATTATTTGTATGAACATTTTTGTGACTGTATTTTTATTAGTACTTTCTTTA CCTGTGTAGCTGGTCTATCACAATATTATTAAGTATCGTAATATAACTTCTTTTTTTG ATCCTAGAATAGGTGGTAATCCTTTAATTTATCAACATTTGTTTTGATTTTTTGGGCATCCTGA AGTTTATATTTAATTTTACCTGCTTTTGGTATTATTAGTCAAAGAAGTTTATATTTAAGTGGT AAAAAAGAAGTATTTGGTCTTTAGGTATAGTATACGCTATTTAAGAATTGGTTAATTTGGT TGTGTAGTATGAGCTCATATATATACTGTAGGTATAGATTTAGATTCTCGTCTTATTTA CTGCTGCTACA

Anexo 4. Padrões moleculares novos obtidos para as espécies percentes à família Aphelenchoididae da região ribossomal ITS.

Gênero *Aphelenchoides*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<i>Aphelenchoides bicaudatus</i>	TTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTACCCGGGACTGAGTTGTTTCGAG AAATCTACGGACCTGTTTGCTTGCAAGCGGAAAGTAAATTAATCGCAATGGCTTGAACCGG GTAAAAGTCGTAACAAGGTAGCAGTAGGTGAACCTGCTGATGGATCACTAACGATTCAAAC ACACCTTGTGCTAGTTGCTGTCAAGACCTCTCACCAAGAAGTGAAGCAGCAACAAGCAAAA AGCTAAGACTGACGACTATCAACTAGTCGAAAGTCGAAGTTACGCATTCAACGGCTTGTGG GTATCTGTGTTTCGGTTGAGCAGTTGTGTTTACGACCGTGGCTGCAATGATTCCGAACGGTAT AGTCGCTTTAATGGCTCGATTATAGATTTAATGACTCACGGAAGCGCCCAACGAATTCATATT CATTTTTACTTTTAAAAACAAGCAAAATCAGCTATATCGGTGGATCACTTGGCTCGTAG ATCGATGAAGAACGCAGTGAATTGCGTTAAGAATCTCGAATTACAGATATTATGAGAGACAT

	<p>ATTTTCGATTGCATATTGCATCGTTGGGCATTTGCTCATCGATATACCCGACTCAGGGTGTGT ATCCTAACAAAGCAAAACCAAGCACAAATGTGGGCAACTGATTGTGTTTCAACTGCATAGGACT GAAAAGTCCACTAAAAGAGTGTGTCTGTTTAAAAGCCATTTAGTAGTTGATTGCAAATGAAA GTTTCGCTTTTGACCGTTAAGAGGGCGATTGAATAGCGTCAAGACACTTTGGTTAATCCACCTGA GTCGGATATGATCACCCGCTGAACTTAAGCATATCAGTAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACC GGGATTTCCCTTAGTAACGGCGAGTGAAA</p>
<p><i>Aphelenchoides besseyi</i> consenso</p>	<p>TGTTTCCGTAGGTGAACCTGCTGCAAGATCAGGTATCGAAGCAAACAATCGAGTTGGGAGTG CCGTGGTGCGGATATTGACGGTCTGTCGTAAGCACTCGGTATTTCCCGATCGCTGGTCTCTT CAATGAGATTTAGTTTTCACAAACGGCTTCTCTGGGCCTCTATGTTGGATTGAGCAGTTGTG TTCCACGTCCGTGGCTGCGACGATGTCCAATAGTAGACACCGCTTCGGCGGTGTTAGAGTTG ATGACCCGGTCCGGCACCCAGAACCAACAACCCATTTCAATTCATTCAATGCCAACTAATC GAGCAAGTTATGTCGGTGAATCACTTGGCTCGTGGGTCGATGAAGAACGCAGTGAATTGCGT TAATAAGCACGAATTACAGATATTACGAGTGCCTTGTTTTCGATTGCATATTGCGTCTGCGGG TTCTGCCCTTCGACATACGCAGCTCAGGGTGTTTTCATGGAAAGGGAAGCCAAATGCATTGT GTAATGGTTTTGCTATCGAATCGTCGACTTCCCCACGGAATGCAGTTGACGTGTTGCGCTT TGGTGGCGTATTCTTCGGAGTATGCCTGTGATTACGTTGTTAGTACTGTTTCAACGATGTCCA TGTGCAAGGAACATGATTGCGATTGGCTTTTGATCTGTACGGCTTTGAGTGACTTGATCCACA ATTGAGATGCTTGGCTGTTATTGAGAAGGCTTTTGCAGTGTGTTGTTCCGGATGTCGGCAGTGC GATTGATGACACTGACCATTTGATTGGTTGAAATCCACCTGAGTTGCGTATGACCACCCGCTG AACTTTAAGCTATAACATAT</p>

Gênero *Bursaphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<p><i>Bursaphelenchus eucarpus</i> MG840409</p>	<p>GTAACAAGGTAGCCGTAGGTGAACCTTCGGCTGGATCATTATCGATCATATGACATTTTATTC GAAAACAACAGTCGGCAGCGCTTAGGGGGCGTTGTCAGTATTACTTTAACGGCTTGGTT TGGCTTCTGTGGAAGGTTGAGCAGTTGTGTTTACGTCCGTGGCTGCGCATGATACTGACCGA TAGCTTGATGCTTTTTCGCTTGTGAGTGAATCAATGACCCCGAGAGGGCGCCAAACAACAC CTATCATTTTCGTTTATATACATGTTACAAGTACTAAAAGTTACTCCGGTGGATCACTCGGTT CGCGGGTCGATGAAAACGCAGTGAATTGCGATAAGAAGTACGAATTACAGATATTACGAG TACCATGTTTTGAATGCATATTGCGCCGTTGGGCTATGCTCTTCGGCATATGTGATTCAGGG TATGTTTACACAACAACAGAGCTTCTATTGTTTCCAGATTGTTGGAGTTGGTTGATAAGG CTACTGCTACGAGCTTGGCGGTTGTTTGCCTGCTTGCCTGCTTTGGTACGTTTGTGTGCGGGC ATTCGTTTTCGTGTGGTCAGAGTTGGTGCATTCTGTGCTGCTCGGATACATTGTTGTTGATA GTTTGTTCGATATGCTTGGCATTAGTTGCTGTGGCGTTGAGCTAAACGTTCCGATACCG TCGGTTTCCGATGATAGACTGTGCTTTGGTTTTGTGCGTTTTTCGATATGTTGCGCTGTTTGT CGTTGTGTGAACGTGCGGGGGCTTTTGTGCGTGAGAAGTGGCATTGGCTGCTCGTTCCGGC ATACTGCTTAGTTTTAACTACCTGAGTTATGTATGATACCTGCTGAACCTTAAGCATATCA GTAAGCAGAGGAAAAGAAACAACATGGATTCCCCTAGTAACCTGCGAGTGAAA</p>
<p><i>Bursaphelenchus ratzeburgii</i> consenso</p>	<p>TTATCGATCACAAACCTGTTACGCATTTGCTTTCTTCGGAATTGCAAATTCGTTGTTCTTC GTGAATAGCGAGCGGTACATGACAGCAATGTTGTGTATGCTACCTAATCGAAAACGAATTT AACGGCTTGGTTTGGCTTCTGTGGAAGGTTGAGCAGTTGTGTTTACGACCGTGGCTGCGCAT GATACTGACCGATAAATCTCCGCTTTCGCTGATGGAGTGAATCAATGACCCCGAGAGGG CGCCAAACAACACCCATTCAATTAATCTTTGTTATGTGAAATGAAAGTAAACAAAAGTTACT CCGGTGGATCACTCGGTTCCGGGTCGATGAAAACGCAGTGAATTGCGATAAGAAGTACG AATTACAGATATTATGAGTACCATGTTTTGAATGCATATTGCGCCGTAAGGTTATGCCCTTC GGCATAATGATTACAGGTATGTTTCATACAACACAGCGCTCTATTGTTTCTCGTTAAGTCG AAGGTTAAAGTTTTGAGTGACTGTTGAAGACAGGCAGCTGTTGCTTTGCCGCTTATGGCGA GTGAGCGTGCAGTTGTTAACTTGGCGTGGTCAGACGTTTCGGCGTCGGATAGCTAACGTTTG TGAAGTGGTGTTCGAGTGATTGCAAAGTCTGTCGAAACAACCTGGGATATTGGCTTTGCG ATTTGCCAGTAATGTTGATGTGTTAACCATTGCTTGTGCAATTTTACGCGTCAATGGC TGGTAGTCGTTTTGCTGAGGGTTCGGCGTTTCTTGTAATGCTAGACTGCCCGTTGGCACTG</p>

	<p>TCTTTGCTAGTTTCAAACCTACCTGAATTACGTATGATTACCTGCTGAACTTAAGCATATCAGT AAGCAGAG</p>
<p><i>Bursaphelenchus sinensis</i> MG934676</p>	<p>CGTAACAAGGTAGCTGTAGGGTGACCTTCGGCTGGATCATTACGATCACAAACACCAGTTA CGCGCTTTTGAAGAATTCGAAAACGTTGTCGTTGCACGCTTGTGTGCTTCGGCGTCGCTGTTT TTCGGAACAGCTATGTGCACCATTGCAAGTGCATTGAACGGCTTGGTTGGCTTCTGTGGGAG GTGGAGCAGTTGTGTTAAACGACCGTGGCTGCGCATGACACTGACCGACAGCTTGACGCTTC GTGCGACGAGTGAGAATCAATGACCCCGAGTGGGCGCAAACAAAACCCATTATTCAATCA TATATTTGATCATAATTGATAAGTTACTCCGGTGGATCACTCGGTTTCGGGGTCGATGAAAAA CGCAGTGAATTGCGATATGAAGTACGAATTACAGATATTACGAGTACCATGTTTTTGAATGC ATATTGCGTCTGTTGGCTTTGCTCTTCGACATATGTGATTACAGGGTATGTTTCTCAAACACAG AGTCCTTATGTTGCCGTCGTTGTGGCGTTTCGGACTACTGCTTCATGTACAGACGGCTGTATT GCTTGGCCGCTCGGGTGTGGCTTGACGTCGTTTTACGTGGACGTGCGCTAGGGCTTGTTCCT TGTGCCGTTAGCATTATGCAGGTGGTGTGTTTTGTGGCGTGGCTCTGTGCCCTCCACATG AACATTGAGGAGACTGTTGTTGGTGCCGGCTCATTCTTATTGAATGCAACTGTTTTGCCGTTT GTGCAATTGGCATGAGAGTTTGAAGCTTGTGTGTTCCGATGGCAGGTGTGGTGCATGCAACA TGTGTTGTGTGATGCTGCTGCCTCGTTGGCAATGCCTACCTAGTTTTTTGAAACTACCTGAGT TACGTATGATTACCTGCTGAACTTAAGCATATCAGTAAGCAGAGGAAAAGAAACAAACATG GATTCCTTAGTAACGCGAGTGAAA</p>
<p><i>Bursaphelenchus tokyoensis</i> AB430445</p>	<p>TCTAAGTGGAGTATTATAAAGCGAAACTGCGAACGGCTCATTACAACAGATATAACTTACTG GATCTTTTTCTTATATGGATAACTGCGGTAATTCTGGAGCCAATACATGAATCAAGCTCTGGG CTTCGGTCCAGAGTGC AATTATTGGAGCAAACCGGCTCTCGTATCGTTTGTCTAACTCAGGATA ATTTTGCATATCGCATGGTCTTGTACCGGCGAAGTTTCCTTCAGGTATCTGCTTTATCAACTAT CGTTGGTAGTTTATTGGTCTACCATGGTGTGACGGGTAACGGAGAATCGGGGTTTGACTCCG GAGAGGGAGCCCTTAGAAACGGCTACCATGTCTAAGGATAGCAGCAGGCGCGAAAATTACCC AATATCAAACGATGAGGTAGTGACGAGAAATAACAAGATCGTTCTCTATGAGATCGATTAT TGAATGAGTACAATCCAGAAATTTAACGAGTATCTACGAGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGC AGCCCGGTAATTCCAGCTCTCGTAATGTATAGAATTATTGTTGCGATTA AAAAGTTTCGATG TGGATTGTGAAGCAGGTGTGGGTCCACTCTCTGAGTGCCTACTCAACGCTTGCATTTTGCATG TTTTCGGGTGGTTTGCTTCGGCGGCCACGTGATGCATGCAGGATTACTTTGAACGGCTCAAGT GCTTAAAGCAAGTCTTATGACTGAATACCGGTGCATGGAATAATGGAACAAGGTTGTGGCT GAGTTTTATTGGTTTTGTCCGCTAAAACAATGGTTAAAAGGAACAGCCGGGGGCATTCGAT CGCTGCGCGAGAGGTGAAATTCGTGGACCGTAGCGAGACGCCGACAGCGAAGGCATTGTC CAAGAGTGTTCATTAATCAAGAACGAAAGTCAGAGGTTTCGAAGCGGATTAGATACCGCTC TAGTTCTGACCGTAAACGATGCCAACTGTCGATCCGCTTGTGGATTTTATTCATGAGCGGGGA GATTTCCGGAACGAAAGTTTTTCGGTTTTCCGGGGAAGTATGGTTGCAAAGCTGAAACTTAA AGGAATTGACGGAAGGGCACCCAGGAGTGGAGCTTGC GGCTTAATTTGACTCAACACGG GAAATCTACCCGGCCAGTACATTGTAAGGATTGACAGACTGACAGCTCTTTCATGATTCCG TGAATGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTCGTGGATTGATTTGTCTGGTTTATTCCGATAACG AACGAGACTTTAACTATTAATAGTGCGCATGTTGCTTTTGTGCTGCTGTGATCACTTCTAAA GGAATTTGTGGTTTTCAACCTCAAGAAATGAGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGT TCGGGGCCGACGCGTGTACAATGATGGTAACAGCGTGAATTGCTCTTCCGACAGGAATT GGCAAACAGTTGAGATATTATTATGGCTGGAATTGAGTGTGAAATTTTCTCTCATGAACGA GGAATTC AAGTAAATGTGAGTCATTA ACTTGCAATTGATTACGTCCTGCCCTTTGTACACAC CGCCGCTCGCTGCCCGGACTGAGTTACTTCGAGAAAACCTAGGATTGCCGGCGTTTCGATG TTTCGGCATTGGCGCTGGTGAGAACTAGTTAATCGCAGTGA CTGAAACCGGGCAAAGTCG TAACAAGGTAGCCGTAGGTGAACCTTCGGCTGGATCATTAAACGATCAAACCTTTTTCATTCAAT CGTTTCGCCAGTCGATTGATGATACGTTTTGGCTGTTGCACGTTTTTTCCGCCATTTCGTGTGTT GTTGTTTTTCGCTGCGAGTGCATGGGTGGTGGGCTTGTAAATGAGCTGCCATCCATCGCTTGC AACAGTTCCGTTTGGGTTTTCTGTGCGCCATTGCCGAGTCA GTGCGGGACTGTGCTGATAGATG AGGCTGGCCGGCAACTTGTCCGTGGCAACACGTCGACGAGTGTAGAATGTTGAAGAGCCGA ATGGCCGCCAAAGCAAACATTTGTTTTATTGAAACTATTTCCGACAATTTGAAAGTAAAAC CAATTA CTCCGGTGAATCACTTGGTTTGGCGGTCGATGAAAAACGCAAGTGAATTCGATAAT AAGTACGAATTACAGGTATAATGAGTACCATGTTTTTGAATGCATATTGCGCTCTTGGGCTTT GCTCTTGGGCGTATTCGTCTCAGGGTGGACTATTGACATGGCGAGCCGTTATTGTTGTCTGGG</p>

	<p>CTCGCCGTAATTGATTGAGACTTGGCGGCGGAACCTTGAATGAAAATTCGGTTCGTTCCGGCTT TTGTTACAGTGATTTTCGAAAGATTGTTGTGTAGTCGGGTTGTGTACTGGTTCGGCTTAATTGT CGACACAGTCGAACCCGCGGTGGGCGCGGCCTGCCAAATGCCTTGTTCATCCAATTAGTGACG CGTAATGGTTTTTTGCTGTCGCTTGTATGTTGGTTGGTTGGTGTGGGCGTGGCATTCCAAAC GCGTCGGGCCGTTCTGGCTGCACTCGATTGATTGTAATTCACCTGAGATGAGTACGATTACC TGCTGAACTTAAGCATATCAGTAAGCAGAGGAAAAGAAAACAACATGGATT</p>
<p><i>Bursaphelenchus tokyoensis</i> KY646465</p>	<p>TTGATTACGTCCTGCCCTTGTACACACCGCCCGTCCGCTGCCCGGACTGAATTACTTCGAG AAAAGTAGGGATTGCCGGCGTTTCGATGTTTCGGCATTGGCGCTGGTGAGAACTAGTTAAT CGCAGTGACTTGAACCGGGCAAAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGTGAACCTTCGGCTGG ATCATTAAACGATCAAATCTTTTCATTCAATCGTTTCGCCAGTCGATTTCGATGATACGTTTGGC TGTTGCACGTTTTTTTCGGCCATTCTGTGTGTTGTTTTCGTGGCGAGTGCATGGAGGCTTG TAATGAGCTTCGTGCTTGCACAACAGTTCGGTTTGGGTTTCTGTGCCCATTCGCGAGTCA GTGCGGGACTGTGCTGATAGATGAGGCTGGCCGGCAGCTTGTCCGTGGCAACACGTCGACGA GTGTAGAATGTTGAAGAGCCGAATGGCCGCCAAGCAAAACATTTGTTATTTTGAACATATT TCGGACAATTTGAAAGTAAAACCAATTACTCCGGTGAATCACTTGGTTTCCGGGTCGATGAA AAACGCAGTGAATTGCGATAAATAAGTACGAATTACAGGTATAATGAGTACCATGTTTTTGAA TGCATATTGCGCTCTTGGGCTTTGCTCTTGGGCGTATTCTGCTCAGGGTGGACTATTGACATG GCGAGCCGTTATTGTTTGTGGGCTCGCCGTAAATTGATTGAGACTTGGCGGCGCGGACTTGA ATGAAAATTCGGTTCGTTTCGGCTTTTGTACAGTGATTTTCGAAAGATTGTTGTGTGGTCCGGT TGTGTACTGGTTGCGCTTAATTGTCGACACAGTCGAACCCGCGTGGGCGCGGCCTGCCAAA TGCCTCGTCATCCAATTAGTGACGCGTAAATGGTTTTTTGCTGTCGCTTATATGTTGGTTGGGT TTGGGKTTGGGCTTGGCACTCCAAACGCGTCGGGCCGTTCTGGCTGCACTCGATTGATTGT AATTCACCTGAGATGAGTACGATTACCTGCTGAACTTAAGCATATCAGTAAGCAGAGGAGAA GAAACAACATGGATT</p>
<p><i>Bursaphelenchus xylophilus</i> <i>consenso 1</i></p>	<p>GTTCTTAGTTCGTGGATTGATTTGTCTGGTTTATTCCGATAACGAACGAGACTTAACTATTA AATAGTGCGCATGTTGCTTCGGCTGCGTGTGATCACTTCTTAAAGGAATTTGTGGTTTTCAAC CTCAAGAAATTGAGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCCGGGGCCGACCGGTGC TACAATGGTGGTAACAGCGTGATTGTCCTTTCCGACAGGAATTGGCAACAGTTGAGATAT TATTATGGCTGGAATTGAGTGTGAAATTTCTCTCATGAACGAGGAATCCAAGTAAATGTG AGTCATTAACCTGCATTGATTACGTCCTGCCCTTGTACACACCGCCCGTCCGCTGCCCGGA CTGAGTTACTTCGAGAAAAGTAGGGATCGCTGGAGTTCGATGTTTCGGCATTTGCTTTGGTGA GAACTAGTTTAAATCGCAGTGGCTTGAACCGGGCAAAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGTGA ACCTTCGGCTGGATCATTACCGATCCTATGACACATTTATTCTGCTCGTACGATGATGCGA TTGGTGACTTCGGTTGCCGCGCATGATGGCGGTTTCGATTCCGCTGCTCCGCTACTGATGGT TCGCATGGAAGCCGAGAGGCGACCGTGCAACGGTGAAGTCTGGGTTTCTACGTGCTGTTGTT GAGTTGGCGTTTTACCGTGCCGACAGATGAGACCAGCCAGCTGTTGCCGATTCTGTTCTGGC GAGCGTAGGATTGAAAAGCCGAGAGGCTGCCCTGACAAAACATTCATTTTACATTTATTTT GTTGAAAAGAGCTTTAAGTTACTCCGGTGGATCACTTGGCTCGCGGTCGATGAAGAACGC AGTGAATTGCGATAAATAAGTACGAATTACAGATATTATGAGTACCATGTTTTTGAATGCATAT TGCGCTCTTGGGCTTTGCTCTTGGATATTCGATTACGGGTGTGTTTTTAACTCGAGCAGA AACGCCGACTTGTTTTTTCAAGTTTCTGCACGTTGTGACAGTCGCTCTGCATTGTTCCGCGCA ATGTTAGGCACCATCTGTTTTACGCGGTTTGTCCGCGACCAATATCTTCTACGCACTGTTTGT CCGTGCCGGGGCGAGAGGGCTTCTGTGCTCGATTGTCGTGCGCGGCTAAACCGTTTGGTGATGT TGTTTTCAACGGCGCGGCGTACGGGACGTTCCGATGAGAATGTTTGGAGTCTGGCTGCGGT TTGTTGAGCTTCGTGCTGAAGCCTTGGGGCAGTGTGTCGGAATTTGGTTGAAACCACTGAG TTGGGTATGACTACCTGCTGAACTTAAGCATATCAGTAAGCAGAGGAAAAGAAAACAACAT GGATTCCCTTAGTAACGGCGAGTGAACGGGAAGAGCCAGCGCTAAAGGTTGTTGGCTTCT GGCTGATGACCGGTGTAGCGTATAGAACCCTTCTGTTCCGCTTGTTCAGGCTGGCTTAAAGTCTCG TTGGAACGCGGCGGTAAGACGGTTTTACCCGGTAAACCTGGCTGGACTTGGTGAGTGTG GTTCTGGGAGTCGGGTTGTTGGAACAGCCAAAGTTGGTGG</p>

Gênero *Robustodorus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<p><i>Robustodorus arachidis</i> LC369497</p>	<p>ATGTGTAAGTAGAGTTGATATAAGGGCGAAACTGCGAACGGCTCATTACAACAGATATAATTT ACTTGTCTGATTGCCAAGAAACGGATAACTGCGGTAATTCTGGAGCCAATACGTGCACAAAT CGTGATTTCGTTGCGAGTCGCGTTCGCTTATCGGAGCAAACCAACCTTCGGGTCGTTTGTCT AACTCTGGATAATCCAGCCTATCGCATGCCTCACGGCGGCGAAGCGACATTCAAGTATCTGC CCTATCAATTATCGTAGTTAGTGTATTGGACTAACTAGATGGTGACGGGTAAACGGAGAATCA GGGTTCTGACTCCGGAGAGGCCGCTTAGAAACGGCGACCATGTCTAAGGATAGCAGCAGGC GCGAAAATTACCCACTGCTACTCTGAGCGAGGTAGTGACGAGAAATAACAAAGCCGTTCTC TTGAGGTCGGCTATTGGAATGGGTACAACCTAGACAATTTAACGAGTATCAACGAGAGGGC AAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCTCGTAATGTATAGAATTATTGTTGCGGT TAAAAAGTTCGTAGTTGGATTGTTGAGTCGGGGCGGAGGCGCTTAACGGCACTTTCTCGCT TCGGCATTTCGCTCTTTCGCGGGTTCCTTGTGGCATCCTCGCTCGGCGCGGATTACTTTGA ACGGCTACGTGCTCAAGGAGGTCAATTGGACCGATTACCGGTGCATGGAATAATGGAACA AGGTCTCGCCGAGTTTGTGTTGTTGTCGGCTGAAACAATGGTTAACAGGAACGAGTGGG GGCATTTCGTATCGCTGCGCGAGAGGTGAAATTCGTGGACCGCAGCGAGACGCACTAAAGCG AAGGCATTTGCCAAGAGTGTTCATTAATCAAGAACGAAAGTCAGAGGTTTCAAGGGCGATT AGATACCGCCCTAGTTCTGACCGTAAACGATGCCAACTATCGATCCGCCGTTGGACTCCAAA TTCATAGGCGGGGAGGTCGCGGAAACGAAAGTCTTTCGGTTCGCGGGGAAAGTATGGTTGCA AAGCTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCTTGGCGCTTAAT TTGACTCAACACGGGAAATCTCACCCGGCCAGTACATCGTAAGGATTGACAGATTGAAAGCT CTTTCATGATTTCGGTGAATGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTCGTGGCGTGAGTCGTCTGCT TAATTGCGATAACGAGCGAGACTCCGATTGTTAAATAGCGCGGGGATTGGCTTGCCTGTCCC CTGTGCTTCTAACGAGATTGGGCGCTTCAAGCGCCAAGAGATGGAGCAATAACAGGTCTGT GATGCCCTTAGATGTTTCGGGGCTGCACGCGTGTACAATAGTAGCAACAACGGGATTGTCCT CCTCCGATAGGAGTTGGCAAACCGGTGAGATGTTATTATGGCTGGAATTGAGTGTGAAATT TTCTCTCATGAACGAGGAATTCAAAGTAAATGCGAGTCATCAACTTGCATTGATTACGTCCT GCCCTTTGTACACACCGCCGTCGCTGCCCGGGACTGAGTTATTTTCGAGAAATCTACGGACC GACGTCTAGGCATTTCGCTGCCTCCTCGCTGGAAAGTAGCTTAATCGCGATGGCTTGAACCG GGCAAAAGTCGTAACAAGGTACCTGTAGGTGAACCTGCAGGTGGATCACTAACGATCAAAG CAAAACCTTGTGATTGCTGCCCTTACGGGGTTCAGTATACCAAAATGAACGGCTCTCTG GGTTCCTATGTGTAGACCGAGTAGTTGTGATGAACGTCCGTGACTACGAGGAAGTCTGCCGA CAGTCCCCGCTTGGGGTGAGAGAGGATTAAAGACCCGAGTGGCGCCAGAACTCATACT CATTCAATCACATTTCCCAAGACACATAGATGAACGTAAGCCATATCGGTGGATCACTTG GCTCGTAGATCGATGAAGAACGCAGTGAATTGCGTCAATAACCGCAATTACAGATACCATG AGCGGCTTGTTCGATTGCATATTGCGTCTGTTGGGCTTGCCTCATCGGCATATTCGATTCA GGGTGTGATTTCGAGTGGTGAACACTACATTGTTACCGTCAATAGTACGACGCTTTCGAGGTG GCTACTCACTATCGACTTAAAGTGACCGTGTGTTGGCGATGTGGTAAGAACCAGAAGAGGA GCCGTGTGTGCAGTTGTTGCATGAATTTCTGTCGACATCCGCACACGACTTCTCGCTGGTC GCCCAGTCACTGGTTGAATCCACTGAATCGTGTATGAGTACCGGCTGAACCTAAGCATATC AGTAAGCCGAGGAAAAGAACTACCAAGGATTCCCTTAGTAACTGCGAGTGAAAAGGGAAG GGTTCAGCGCTAAAGCCGACTCTCATTGGGGTGTGGCGGTGTGGCGTTCGAGAGAGGAGTG TCGTCCGGCGTGTGTTGTTAAATTCGCTGGAACGCGATTGCAGAGATGGTTTACACCAG TATGACCGGTGATCGTTGGCGACTTCTCGCTCTAGAGTCCGGTGTGTTGGAAACCGAGCCCA AAGCGGGTGGTAACTTACCTAAGGCTAAATACGGCTACGAGACCGATAGCAACAAGTA CTGTGAAGGAAAGTTGAAAAGCACTTTGAAAAGAGAGTGCAAGAGAACGTGAAAACCGATGT GGTGAAGCGTATGAAGCCGGCGTATTTAGTGCAGTCAACTATTCAGTTGGGCGATTCTCT GGCCGAGCATTCCGTAAGGTTGCCGACCGGTGATTGTTGTTGATTGGATGGTGCATTTGCGT ACGGAGTGCCTGAATCGGTTGGATTGTTGTTGATGGTGTGATAGAGGACCGTCTGCGG ACAGGAAACCTGTGCGACTTGAAGGCGAGTGCAGTCTGGCTGCATTATGATGCTGTTGGTGAA TTCGTGGCCCCCGCGTCGATTAGATGATTCGTGTGTGATGCTTGCATTTCCGCGCTTGTGTC GAGGTCCGGCGGGGAGTTGCTCCACAGCATATTCGGCGTAAAGTCCGGTCACTCATATGACC CGTCTTGAACACGGACCAAGGAGTTTAAAGGTGTGCGCAAGTCAATGGATTCCGCAAAATYCA AAGGGCGAATGAAAGTGAGCCACTTAGTGGCTGTGATGCGAGGCACTCGTTGTCGAGCATC</p>

	<p>GCCCCATGACTAGGCCTCGGTCTGTTGTGGCGGCTGAGCGTACGCTTTGAGACCCGAAAGAT GGTGAACATATGCCTGAACAGGACGAAGTCAGAGGAAACTCTGATGGAAGTCCGAAGCGGTT CTGACGTGCAAATCGATCGTCTGATTTGGGTATAGGGGCGCAAGACTAATCGAACCATCTAG TAGCTGGTTCCTCCGAAGTTCCCTCAGGATAGCTGGAGCACTCGTTGTGCAGATATACTCG GTAAAGCGAACGATTAGAGTCCTTGGGATGTATTATTCTCAAACCTATTCTCAAACCTCAAATG GTTATGTTGTGCATGTTACTTAACGCATGTGAACATCGACTTCGATTGCCGTGCTCAAAGTGG GCCATTTTGGTAAGCAGAAGTGGCGATGTGGGATGAACCAAACGTGGAGTTAAGGTGTCCA ATTCGCCGCTCATGAGACCCATAAAAGGTGTTGGTTGATATAGACAGCAGGACGGTGGCCA TGGAAGTCGGAATCCGCTAAGGAGTGTGTAACAACCTACCTGCCGAATCAAACCTAGCCCTGAA AATGGATGACGCTAGAGCGGCGAACCTATACTCCGCCGTTGATGCCTAGTGGAAAGGGCTCA ACGAGTAAGAAGGTTGTTGTGATGGCGTTGAAGGCGCGGCGGTGAGCGCGGCTTGAGCCGT CATGAGT</p>
--	---

Gênero *Ruehmaphelenchus*

Espécie Molecular	Padrão Molecular
<p><i>Ruehmaphelenchus juliae</i> LC031813</p>	<p>TCTAAGTGGAGTATTATAAAGCGAAACTGCGAACGGCTCATTATAACAGATATAACTTACTA GTTCTTGTCTATATGGATAACTGCGGTAATTCTGGAGCCAATACATGCATTAAGCCGCTGC CTTCGGGTTAGCGGTGCAATTATTGGAGCAAAACAGTCTCGTACTGTTTGTCTAACTCTGGAT AATTCTGCTTATCGCATGGTCTCGTACCGCGAAGTAACCTTCAGTATCTGCTTTATCAACT ATCGTTGGTAGTTTATTGGACTACCATGGTGTGACGGGTAAACGGAGAATCAGGGTTGACT CCGGAGAGGGAGCCTTAGAAACGGCTACCATGTCTAAGGATAGCAGCAGGCGCGAAAATTA CCCAATATCAAACGATGAGGTAGTGACGAGAAATAACGAGATCGTCTCTTTGAGGTGCGAT TATTGGAATGAGTACAATTAGAAAATTTAACGAGTATCTACGAGAGGGCAAGTCTGGTGCC AGCAGCCGCGGTAAATCCAGTCTCGTAATGTATAGAATTATTGTTGCGATTAAAAAGTTCGT AGTTGGATTGTAACGCGGCCATGGGTCCATCCTCGTATGTGACTCAATGGTTCGATTTTGC TGGTTTTGAGGCGTCTTTCCGGCGGCTCTTGATGCCAGCAGGATTACTTTGAACGGCTCA AGTGCTTAAAGCAAGTCTTATGACTGAATACCGGTGCATGGAATAATGGAAGAAGGTTGCGG CCGAGTTTTATTGGTTTTGTCGGCTGAAACAATGGTTAACAGAAACAGCCGGGGGCGATTCGT ATCGCTGCGCGAGAGGTGAAATTCGTGGACCGTAGCAGACGCCCGACAGCGAAGGCATTT GCCAAGAGTGTTCATTAATCAAGAACGAAAGTCAGAGGTTGGAAGGCGATTAGATACCCG CCTAGTTCTGACCGTAAACGATGCCAACTGTCGATCCGCTTGTTGGATTCAATTCATGAGCGG GAGATTCGCGAAACGAAAGTTTTTCGGTTTTCGGGGAAAGTATGGTTGCAAAGCTGAAACTT AAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCTTTCGGCTTAATTTGACTCAACAC GGGAAATCTACCCGGCCAGTACATCGTAAGGATTGACAGACTGACAGCTCTTTCATGATT GGTGAATGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTCGTGGATTGATTGTCTGGTTTATCCGATAA CGAGCGAGACTTTGACTATTAATAGTGCACCTGTTGCTTCGGCTGCGAGCGATCACTTCTTA AAGGAATTTGTGGTTTCCAACCTCAAGAAATGAGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGA TGTTCCGGGCGCACGCGTGTACAATGGTGGTAACAGCGTGATTGTCCTTTCCGACAGGA ATTGGCAAACAGTTGAGATATTATTGGCTGGAATTGAGTGTGAAATTTCCCTCATGAAC GAGGAATTCAGTAAATGTGAGTCATTAACCTTGCATTGATTACGTCCTGCCCTTTGTACAC ACCGCCGTCGCTGCCGGGACTGAGTACTTCGAGAAAACAGGGATCGTTGGAGTCCGAT GTTTCGATCTGCTTCGATGCAAACAGCTTAATCGCAGTGGCTTGAACCGGGCAAAAGTCGT AACAAAGTAGCCGTAGGTGAACCTTCGGCTGGATCATTACAGTTCCAAACAAAACCTTGT GTTTTGACGCATTGGAGAGTGCAGCCTGAGAACGTCGCTCTGCGTTTGACACTGTATAT TGTTGTGCTGATCAAACCTTAACGGCTCCGTTTGGTTTCTGTGGGTCGGCTGAGCGGTCGTGT CGAACGTCCGTGGCCGCGCATGATGTCGACCCGGTATTTCGCGCTTTCCGCATTGGCACACA CACGCTTTTGTGTGTGTGTTGGTGTGAATGTGCTGTGGAACAGAATCAATGAACTCAAGA GGTCGCCAAACAAACACCAATTATTCTAATCTTTAAGCTGTGAAATAATATAAGTTAT ACCGGTGGATCACTTGGCTCACGGTTCGATGAAAACGAGTGAATTGCGATAAGAAGTACG AATTACAGATATTAGAGTACCATGTTTTGAATGCATATTGCGCTGTTGGGCTTTGCTCTTC GGCATATGTGATTACGGGTATTTCCATACAACAAGGTTGTTTCCGCCCGGTGGAGATATAC CGTTTCATTACGAGCGTCTCCGTGTGAGAGCGGTCGACTAACCGGAATGTAATGAATGAA</p>

	<p>AAGCAATGGTGTGAAGCGACTGCGGATGCTTTTGCATTACGGTTGCGGAAAACGCACGAG ATACGACCGATCGTGTCCGTCACCACGTCAAAGGCGCATGTAATGATTGCTCATATGCGT TGCGGTGAATGTGTTCGACGATTGTACGTCGGGGTTGGCGGCTGCTATTGCGGGCAACCGA TCTGCTCGTGCGGCATTTGTGTTGCAATGAAACTACCTGAATTGCGTATGATTACCTGCTGAA CTTAAGCATATCAGTAAGCAGAGGAAAAGAAAACAACATGGATTCCCTGAGTAACTGCGAG TAAAACGGGATGAGCCCAGCGCTTAAGGCTTCTGCTCGTTTGTAGTGCGGCGCGGTGTAGCGT ATAGAGCTTTCGTTTGTCTGTCGCGGCTGGTCTAAGTTTTGCTGGAAAGCAATGGCATAGAC GGTTTAACCCCGGTATGGCCGGCTGCGGTTGGTAAGTGTAGGTTCTTGGAGTCGGGTTGTTTG GAATCGCAGCCCAAAGCGGGTGGTAAACTTCACCTAAGGCTAAATATGACCGTGAGACCGAT AGAAAACAAGTACCGTGAGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAAAAGAGAGTGCAAGAGAAACG TGAAACCGGTAT AATGGAAGCATATGGAGTTGACGTATCTAGCATGCATACAGTTGCTCGGC GTGGCAATTGCGGCGTTCGTCGTTCCGCAAGGTCGACTGCGTTGTATTGTTGTGCGTTGTGT GATGCATTTGTGTGCGGAGTGCGCCGAGTTGCGTTGTGGCGTCGGTTGAGACTGTTGAGAG GACATGATTTTCGGATTGTGAAACCTTGGACGGTGTAGGCCGTTGCTGCTGCGTAGCTTTGT AGAGATGTGGGCTACGTGCGGCGTTGGGTCGGTACCGTTGGTTTGTGTTGTACGCATGCGT GCGGCGCTTATGAATTGTGCCGGCTCGGCGTTGACTCTGCATCATTCTCGGTGATAGTCAA TGACCCATTGACCCGCTTGAACACGGACCAAGGAGTTTATGGTATGCGCGAGTTATTGG GTCGACGAAACCAAAGGCGAAATGAAAGTGAGACCTTACTGGTTTGAATGTGATCGGCTTC TGTTTCGATGGTTGTCGAGCAACATTGCCCGTTTCGAGGACTTGTCTGATGCGGAGGTTGA CGGTATGCTATGAGACCCGAAAGATGGTGAAGTATGCCTGAACAGGATGAAGCCAGAGGAA ACTCTGGTGGAAGTCCGAAGCGTTCTGACGTGCAAATCGATCGTCTGATTTTGGTATAGGG GCGCAAGACTAATCGAACCATC</p>
--	--

Anexo 5. Tamanho dos amplicons do gene ribossomal 18S para os padrões moleculares pertencentes a família Aphelenchoididae.

Gênero	Tamanho do Gene 18S (pb)
<i>Anomyctus xenurus</i>	834
<i>Aphelenchoides besseyi</i> consenso	808
<i>Aphelenchoides bicaudatus</i>	806
<i>Aphelenchoides bicaudatus</i> consenso	806
<i>Aphelenchoides cf. bicaudatus</i>	840
<i>Aphelenchoides blastophthorus</i>	758
<i>Aphelenchoides blastophthorus</i> consenso	808
<i>Aphelenchoides composticola</i>	822
<i>Aphelenchoides fragariae</i> consenso	812
<i>Aphelenchoides fujianensis</i> consenso	823
<i>Aphelenchoides gorganensis</i>	824
<i>Laimaphelenchus heidelbergi</i>	797
(<i>Aphelenchoides</i>)	
<i>Aphelenchoides iranicus</i>	806

<i>Aphelenchoides macronucleatus</i>	818
<i>Aphelenchoides pannocaudus</i>	820
<i>Aphelenchoides paradalianensis</i>	820
<i>Aphelenchoides cf. parietinus</i>	804
<i>Aphelenchoides ritzemabosi</i>	822
<i>Aphelenchoides saprophilus 1</i>	442
<i>Aphelenchoides saprophilus 2</i>	808
<i>Aphelenchoides stammeri</i>	819
<i>Aphelenchoides subtenuis</i> consenso	715
<i>Aphelenchoides xui</i>	802
<i>Bursaphelenchus abietinus</i>	825
<i>Bursaphelenchus abruptus</i>	827
<i>Bursaphelenchus africanus</i>	824
<i>Bursaphelenchus anatolius</i>	840
<i>Bursaphelenchus arthuroides</i>	826
<i>Bursaphelenchus braaschae</i>	827
<i>Bursaphelenchus borealis</i>	-
<i>Bursaphelenchus chengi</i>	826
<i>Bursaphelenchus clavicauda</i>	826
<i>Bursaphelenchus cocophilus</i>	825
<i>Bursaphelenchus conicaudatus</i>	821
<i>Bursaphelenchus corneolus</i> consenso	828
<i>Bursaphelenchus crenati</i>	826
<i>Bursaphelenchus doui</i>	825
<i>Bursaphelenchus eggersi</i>	826
<i>Bursaphelenchus firmae</i>	825
<i>Bursaphelenchus fraudulentus</i>	825
<i>Bursaphelenchus fungivorus</i>	825
<i>Bursaphelenchus gerberi</i>	825
<i>Bursaphelenchus hellenicus</i>	825
<i>Bursaphelenchus hildegardae</i>	826
<i>Bursaphelenchus hofmanni</i> consenso	822
<i>Bursaphelenchus hylobianum</i>	826

<i>Bursaphelenchus kevinci</i>	824
<i>Bursaphelenchus koreanus</i>	825
<i>Bursaphelenchus luxuriosae</i>	820
<i>Bursaphelenchus mazandaranense</i>	828
<i>Bursaphelenchus mucronatus 1</i>	825
<i>Bursaphelenchus mucronatus consenso</i>	791
<i>Bursaphelenchus paraborgeri</i>	824
<i>Bursaphelenchus paracorneolus</i>	826
<i>Bursaphelenchus paraluxuriosae</i>	825
<i>Bursaphelenchus paraparvispicularis</i>	826
<i>Bursaphelenchus parapinasteri</i>	826
<i>Bursaphelenchus parathailandae</i>	826
<i>Bursaphelenchus penai</i>	825
<i>Bursaphelenchus pinasteri</i>	827
<i>Bursaphelenchus platzeri</i>	825
<i>Bursaphelenchus poligraphi</i>	821
<i>Bursaphelenchus populi</i>	825
<i>Bursaphelenchus rainulfi</i>	822
<i>Bursaphelenchus rufipennis</i>	825
<i>Bursaphelenchus sakishimanus</i>	825
<i>Bursaphelenchus seani</i>	824
<i>Bursaphelenchus sexdentati</i>	821
<i>Bursaphelenchus sycophilus</i>	826
<i>Bursaphelenchus thailandae</i>	827
<i>Bursaphelenchus tusciae</i>	826
<i>Bursaphelenchus ulmophilus</i>	821
<i>Bursaphelenchus vallesianus</i>	-
<i>Bursaphelenchus willibaldi</i>	829
<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>	825
<i>Bursaphelenchus xylophilus consenso</i>	820
<i>Bursaphelenchus yongensis</i>	821
<i>Cryptaphelenchus varicaudatus</i>	821
<i>Devibursaphelenchus eproctatus</i>	838

<i>Devibursaphelenchus lini</i>	831
<i>Devibursaphelenchus teratospicularis</i>	834
<i>Ektaphelenchoides poinari</i>	-
<i>Ektaphelenchoides spondylis</i>	833
<i>Ektaphelenchus obtusus</i>	834
<i>Ektaphelenchus taiwanensis</i>	829
<i>Ficophagus centerae</i>	775
<i>Ficophagus fleckeri</i>	-
<i>Laimaphelenchus belgradiensis</i>	667
<i>Laimaphelenchus penardi 1</i>	823
<i>Laimaphelenchus penardi 2</i>	828
<i>Laimaphelenchus penardi 3</i>	823
<i>Laimaphelenchus preissii</i>	823
<i>Pseudaphelenchus scheffrahnii</i>	822
<i>Pseudaphelenchus sui</i>	778
<i>Peraphelenchus orientalis</i>	832
<i>Robustodorus megadorus</i>	821
<i>Ruehmaphelenchus digitulus</i>	826
<i>Ruehmaphelenchus formosanus</i>	824
<i>Schistonchus aureus</i>	779
<i>Schistonchus benjamina 1</i>	767
<i>Schistonchus benjamina 2</i>	807
<i>Schistonchus benjamina 3</i>	808
<i>Schistonchus benjamina 4</i>	808
<i>Schistonchus benjamina 5</i>	798
<i>Schistonchus caprifici</i> consenso	848
<i>Schistonchus guangzhouensis</i>	775
<i>Schistonchus hirtus</i>	-
<i>Schistonchus laevigatus</i>	-
<i>Sheraphelenchus entomophagus</i>	817
<i>Sheraphelenchus sucus</i>	822

Anexo 6. Tamanho dos amplicons do gene ribossomal 28S para os padrões moleculares pertencentes a família Aphelenchoididae.

Gênero	Tamanho do gene 28S (pb)
<i>Aphelenchoides besseyi</i> consenso 1	738
<i>Aphelenchoides besseyi</i> consenso 2	743
<i>Aphelenchoides fragariae</i> consenso	715
<i>Aphelenchoides fujianensis</i> consenso	752
<i>Aphelenchoides gorganensis</i>	738
<i>Laimaphelenchus heidelbergi</i> consenso	727
<i>Aphelenchoides iranicus</i>	649
<i>Aphelenchoides parietinus</i>	-
<i>Aphelenchoides pannocaudus</i>	527
<i>Aphelenchoides ritzemabosi</i> consenso 1	531
<i>Aphelenchoides ritzemabosi</i> consenso 2	747
<i>Aphelenchoides stammeri</i>	-
<i>Aphelenchoides subtenuis</i>	-
<i>Aphelenchoides varicaudatus</i>	734
<i>Aphelenchoides xui</i>	741
<i>Aphelenchoides xylocopae</i>	755
<i>Bursaphelenchus abietinus</i>	724
<i>Bursaphelenchus abruptus</i>	723
<i>Bursaphelenchus africanus</i>	734
<i>Bursaphelenchus anamurius</i>	739
<i>Bursaphelenchus anatolius</i>	759
<i>Bursaphelenchus antoniae</i>	740
<i>Bursaphelenchus arthuri</i>	706
<i>Bursaphelenchus arthuroides</i>	724
<i>Bursaphelenchus borealis</i>	725
<i>Bursaphelenchus braaschae</i>	734
<i>Bursaphelenchus chengi</i>	740
<i>Bursaphelenchus clavicauda</i>	737
<i>Bursaphelenchus cocophilus</i> consenso	737
<i>Bursaphelenchus conicaudatus</i>	741
<i>Bursaphelenchus corneolus</i> consenso	756

<i>Bursaphelenchus crenati</i>	738
<i>Bursaphelenchus debrae</i>	770
<i>Bursaphelenchus doui</i> consenso	741
<i>Bursaphelenchus eggersi</i>	724
<i>Bursaphelenchus eremus</i>	725
<i>Bursaphelenchus fagi</i>	739
<i>Bursaphelenchus firmae</i>	742
<i>Bursaphelenchus fraudulentus</i> consenso	729
<i>Bursaphelenchus fungivorus</i>	712
<i>Bursaphelenchus gerberi</i>	725
<i>Bursaphelenchus hellenicus</i>	724
<i>Bursaphelenchus hildegardae</i>	739
<i>Bursaphelenchus hofmanni</i> consenso	738
<i>Bursaphelenchus hylobianum</i> consenso	738
<i>Bursaphelenchus kesiyae</i>	722
<i>Bursaphelenchus kevini</i>	779
<i>Bursaphelenchus koreanus</i>	-
<i>Bursaphelenchus luxuriosae</i> consenso	741
<i>Bursaphelenchus macromucronatus</i>	739
<i>Bursaphelenchus masseyi</i>	739
<i>Bursaphelenchus mazandaranense</i>	616
<i>Bursaphelenchus mucronatus</i> consenso	742
<i>Bursaphelenchus mucronatus</i> consenso	742
<i>Bursaphelenchus obeche</i>	732
<i>Bursaphelenchus okinawaensis</i>	739
<i>Bursaphelenchus osumiana</i>	736
<i>Bursaphelenchus paraburgeri</i>	731
<i>Bursaphelenchus paracorneolus</i>	725
<i>Bursaphelenchus paraluxuriosae</i>	741
<i>Bursaphelenchus paraparvispicularis</i>	743
<i>Bursaphelenchus parapinasteri</i>	739
<i>Bursaphelenchus parathailandae</i>	721
<i>Bursaphelenchus parvispicularis</i>	736

<i>Bursaphelenchus penai</i>	722
<i>Bursaphelenchus pinasteri</i>	714
<i>Bursaphelenchus platzeri</i>	723
<i>Bursaphelenchus poligraphi</i>	725
<i>Bursaphelenchus populi</i>	741
<i>Bursaphelenchus rainulfi</i> consenso	741
<i>Bursaphelenchus rufipennis</i>	737
<i>Bursaphelenchus sakishimanus</i>	740
<i>Bursaphelenchus seani</i> consenso	712
<i>Bursaphelenchus sexdentati</i> 1	725
<i>Bursaphelenchus sexdentati</i> 2	725
<i>Bursaphelenchus sinensis</i>	735
<i>Bursaphelenchus singaporensis</i>	725
<i>Bursaphelenchus sycophilus</i>	-
<i>Bursaphelenchus thailandae</i> consenso	722
<i>Bursaphelenchus tokyonensis</i>	746
<i>Bursaphelenchus trypophloei</i>	740
<i>Bursaphelenchus tusciae</i>	724
<i>Bursaphelenchus ulmophilus</i>	714
<i>Bursaphelenchus vallesianus</i>	737
<i>Bursaphelenchus willibaldi</i> consenso	735
<i>Bursaphelenchus xylophilus</i> consenso	742
<i>Bursaphelenchus yongensis</i>	722
<i>Cryptaphelenchus varicaudatus</i>	-
<i>Devibursaphelenchus eproctatus</i>	763
<i>Devibursaphelenchus hunanensis</i>	763
<i>Devibursaphelenchus kheirii</i>	759
<i>Devibursaphelenchus lini</i>	716
<i>Devibursaphelenchus teratospicularis</i>	756
<i>Devibursaphelenchus wangi</i>	776
<i>Ektaphelenchoides andrassyi</i>	722
<i>Ektaphelenchoides caspiensis</i>	732
<i>Ektaphelenchoides compasi</i>	770

<i>Ektaphelenchoides fuchsi</i>	631
<i>Ektaphelenchoides hunti</i>	749
<i>Ektaphelenchoides kelardashtensis</i>	718
<i>Ektaphelenchoides pini</i>	690
<i>Ektaphelenchoides poinari</i>	720
<i>Ektaphelenchoides ruehmi</i>	744
<i>Ektaphelenchus obtusus</i>	752
<i>Ektaphelenchus oleae</i>	828
<i>Ektaphelenchus taiwanensis</i>	764
<i>Ficophagus centerae</i>	-
<i>Ficophagus cf. centarae</i>	-
<i>Ficophagus flickeri 1</i>	-
<i>Ficophagus flickeri 2</i>	747
<i>Laimaphelenchus australis</i>	713
<i>Laimaphelenchus belgradiensis</i>	704
<i>Laimaphelenchus hyrcanus</i>	743
<i>Laimaphelenchus suberensis</i>	765
<i>Laimaphelenchus preissii</i>	-
<i>Martininema baculum</i>	728
<i>Pseudaphelenchus sui</i>	778
<i>Pseudaphelenchus scheffrahnii</i>	822
<i>Pseudaphelenchus vindai</i>	-
<i>Pseudaphelenchus yukiae</i>	663
<i>Robustodoros megadorus</i>	-
<i>Ruehmaphelenchus asiaticus</i>	708
<i>Ruehmaphelenchus digitulus</i>	705
<i>Ruehmaphelenchus formosanus</i>	-
<i>Schistonchus aureus</i>	709
<i>Schistonchus caprifici</i> consenso	757
<i>Schistonchus guangzhouensis</i>	694
<i>Schistonchus hirtus</i>	785
<i>Schistonchus laevigatus</i>	709
<i>Schistonchus virens</i>	-

<i>Sheraphelenchus entomophagus</i>	760
<i>Sheraphelenchus sucus</i>	-

Anexo 7. Tamanho dos amplicons do gene mitocondrial COI para os padrões moleculares pertencentes a família Aphelenchoididae.

Gênero	Tamanho do gene COI (pb)
<i>Aphelenchoides besseyi</i>	642
<i>Aphelenchoides besseyi</i> 1	609
<i>Aphelenchoides besseyi</i> 2	673
<i>Aphelenchoides besseyi</i> consenso 1	609
<i>Aphelenchoides besseyi</i> consenso 2	658
<i>Aphelenchoides besseyi</i> consenso 3	673
<i>Aphelenchoides fujianensis</i>	657
<i>Aphelenchoides fujianensis</i> consenso 1	625
<i>Aphelenchoides fujianensis</i> consenso 2	603
<i>Laimaphelenchus heidelbergi</i> (<i>Aphelenchoides</i>)	-
<i>Aphelenchoides pannocaudus</i>	657
<i>Aphelenchoides paradalianensis</i>	657
<i>Aphelenchoides ritzemabosi</i>	657
<i>Aphelenchoides subtenuis</i> consenso	657
<i>Aphelenchoides xylocopae</i>	657
<i>Bursaphelenchus abietinus</i>	609
<i>Bursaphelenchus abruptus</i>	657
<i>Bursaphelenchus africanus</i>	657
<i>Bursaphelenchus anatolius</i>	609
<i>Bursaphelenchus arthuroides</i>	657
<i>Bursaphelenchus borealis</i>	609
<i>Bursaphelenchus braaschae</i>	657
<i>Bursaphelenchus cocophilus</i>	609
<i>Bursaphelenchus corneolus</i>	657
<i>Bursaphelenchus debrae</i> consenso	591

<i>Bursaphelenchus doui</i>	657
<i>Bursaphelenchus eggersi</i>	609
<i>Bursaphelenchus fraudulentus</i> consenso	609
<i>Bursaphelenchus fungivorus</i>	609
<i>Bursaphelenchus gerberi</i>	609
<i>Bursaphelenchus hellenicus</i>	609
<i>Bursaphelenchus hofmanni</i>	609
<i>Bursaphelenchus hylobianum</i>	609
<i>Bursaphelenchus kevinci</i>	609
<i>Bursaphelenchus luxuriosae</i>	658
<i>Bursaphelenchus mucronatus</i> consenso 1	657
<i>Bursaphelenchus mucronatus</i> consenso 2	657
<i>Bursaphelenchus osumiana</i>	658
<i>Bursaphelenchus paraburgeri</i>	657
<i>Bursaphelenchus paracorneolus</i>	609
<i>Bursaphelenchus paraluxuriosae</i>	657
<i>Bursaphelenchus paraparvispicularis</i>	657
<i>Bursaphelenchus parathailandae</i>	656
<i>Bursaphelenchus platzeri</i>	609
<i>Bursaphelenchus poligraphi</i>	609
<i>Bursaphelenchus populi</i>	657
<i>Bursaphelenchus rufipennis</i>	658
<i>Bursaphelenchus seani</i> consenso	609
<i>Bursaphelenchus sexdentati</i>	609
<i>Bursaphelenchus sexdentati</i>	609
<i>Bursaphelenchus sexdentati</i> 1	609
<i>Bursaphelenchus tusciae</i>	609
<i>Bursaphelenchus xylophilus</i> consenso	657
<i>Devibursaphelenchus eproctatus</i>	641
<i>Ektaphelenchoides spondylis</i>	657
<i>Ektaphelenchus obtusus</i>	657
<i>Ficophagus</i> cf. <i>centerae</i>	657
<i>Ficophagus flickeri</i>	657

<i>Laimaphelenchus belgradiensis</i>	572
<i>Laimaphelenchus preissii</i>	549
<i>Martininema baculum</i>	728
<i>Pseudaphelenchus scheffrahnii</i>	657
<i>Pseudaphelenchus sui</i>	657
<i>Robustodorus arichidis</i>	657
<i>Ruehmaphelenchus digitulus</i>	657
<i>Ruehmaphelenchus juliae</i>	657
<i>Schistonchus caprifici</i> consenso	657
<i>Schistonchus guangzhouensis</i>	657
<i>Schistonchus hirtus</i>	591
<i>Schistonchus microcarpus</i>	591
<i>Sheraphelenchus entomophagus</i>	657

Anexo 8. Tamanho dos amplicons das subunidade pertencentes à região ribossomal ITS para os padrões moleculares pertencentes a família Aphelenchoididae.

Gênero	ITS 1 (pb)	5.8S (pb)	ITS2 (pb)	Total (pb)
<i>Aphelenchoides arachidis</i>	234	161	194	589
<i>Aphelenchoides besseyi</i> consenso 1	279	159	309	747
<i>Aphelenchoides besseyi</i> consenso 2	274	157	260	691
<i>Aphelenchoides bicaudatus</i>	291	161	174	626
<i>Aphelenchoides fragariae</i>	254	159	192	605
<i>Aphelenchoides ritzemabosi</i>	300	160	188	648
<i>Aphelenchoides stammeri</i>	234	161	194	589
<i>Aphelenchoides subtenuis</i> *	286	160	238	684
<i>Aphelenchoides varicaudatus</i> *	289	161	255	705
<i>Aphelenchoides xui</i>	277	161	230	668
<i>Bursaphelenchus abietinus</i>	328	159	420	907
<i>Bursaphelenchus abruptus</i>	606	160	344	1110
<i>Bursaphelenchus africanus</i> *	243	158	272	673
<i>Bursaphelenchus anamurius</i> *	382	160	424	966
<i>Bursaphelenchus antoniae</i>	399	163	409	971
<i>Bursaphelenchus arthuri</i>	326	161	315	802

<i>Bursaphelenchus arthuroides</i> *	287	163	305	755
<i>Bursaphelenchus borealis</i> consenso *	303	160	373	836
<i>Bursaphelenchus braaschae</i> *	397	161	361	919
<i>Bursaphelenchus clavicauda</i>	240	160	361	761
<i>Bursaphelenchus cocophilus</i> *	271	158	376	805
consenso				
<i>Bursaphelenchus conicaudatus</i>	334	160	337	831
<i>Bursaphelenchus corneolus</i>	317	154	509	980
<i>Bursaphelenchus corneolus</i>	318	160	518	996
consenso *				
<i>Bursaphelenchus crenati</i> *	306	160	402	868
<i>Bursaphelenchus doui</i> consenso	324	160	356	840
<i>Bursaphelenchus eggersi</i> consenso	257	157	454	868
<i>Bursaphelenchus eremus</i> consenso	243	159	389	791
<i>Bursaphelenchus eucarpus</i>	246	156	308	710
<i>Bursaphelenchus fagi</i>	251	162	254	667
<i>Bursaphelenchus firmae</i>	332	160	322	814
<i>Bursaphelenchus fraudulentus</i>	350	160	367	877
consenso				
<i>Bursaphelenchus fungivorus</i>	366	163	387	916
consenso				
<i>Bursaphelenchus gerberi</i>	437	160	390	987
<i>Bursaphelenchus hellenicus</i>	328	159	409	896
<i>Bursaphelenchus hildegardae</i>	262	157	360	779
<i>Bursaphelenchus hofmanni</i> consenso	367	160	368	895
<i>Bursaphelenchus hylobianum</i>	410	163	395	968
<i>Bursaphelenchus kesiyae</i>	292	160	290	742
<i>Bursaphelenchus koreanus</i>	307	160	328	795
<i>Bursaphelenchus luxuriosae</i>	293	160	318	771
consenso				
<i>Bursaphelenchus macromucronatus</i> *	310	160	356	826
<i>Bursaphelenchus masseyi</i>	372	160	312	844
<i>Bursaphelenchus minutus</i> *	269	161	305	735

<i>Bursaphelenchus mucronatus</i>	301	160	318	779
consenso 1				
<i>Bursaphelenchus mucronatus</i>	302	160	320	782
consenso 2*				
<i>Bursaphelenchus obeche</i> *	239	160	275	674
<i>Bursaphelenchus okinawaensis</i>	336	160	293	789
<i>Bursaphelenchus osumiana</i>	323	157	397	877
<i>Bursaphelenchus paraburgeri</i>	269	160	282	711
<i>Bursaphelenchus paracorneolus</i>	316	160	389	865
<i>Bursaphelenchus paraluxuriosae</i>	294	160	329	783
<i>Bursaphelenchus</i>	347	160	368	875
<i>paraparvispicularis</i>				
<i>Bursaphelenchus parapinasteri</i> *	345	160	395	900
<i>Bursaphelenchus parathailandae</i>	288	160	289	737
<i>Bursaphelenchus parvispicularis</i>	306	158	367	831
<i>Bursaphelenchus pinasteri</i> consenso	339	160	383	882
<i>Bursaphelenchus pinophilus</i>	305	159	378	842
consenso				
<i>Bursaphelenchus platzeri</i>	384	160	424	968
<i>Bursaphelenchus poligraphi</i>	303	160	367	830
<i>Bursaphelenchus populi</i> *	314	160	357	831
<i>Bursaphelenchus rainulfi</i> consenso	313	159	415	887
<i>Bursaphelenchus ratzeburgii</i>	271	158	322	751
<i>Bursaphelenchus seani</i>	314	163	305	782
<i>Bursaphelenchus sexdentati</i>	305	160	374	839
consenso 1				
<i>Bursaphelenchus sexdentati</i>	305	159	376	840
consenso 2*				
<i>Bursaphelenchus sinensis</i>	293	159	375	827
<i>Bursaphelenchus singaporensis</i>	307	160	307	774
<i>Bursaphelenchus tokyoensis 1</i>	335	160	318	813
<i>Bursaphelenchus tokyoensis 2</i>	328	160	321	809

<i>Bursaphelenchus thailandae</i>	288	160	292	740
consenso				
<i>Bursaphelenchus trypophloei</i> *	318	160	311	789
<i>Bursaphelenchus tusciae</i> consenso	256	159	363	778
<i>Bursaphelenchus ulmophilus</i>	255	160	364	779
<i>Bursaphelenchus vallesianus</i>	305	160	374	839
consenso 1				
<i>Bursaphelenchus vallesianus</i>	305	160	374	839
consenso 2				
<i>Bursaphelenchus willibaldi</i>	432	161	398	991
<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>	308	160	312	780
consenso				
<i>Bursaphelenchus yongensis</i>	241	160	362	763
<i>Devibursaphelenchus eproctatus</i>	264	160	352	776
<i>Devibursaphelenchus hunanensis</i> *	264	160	381	805
<i>Devibursaphelenchus lini</i> *	305	160	689	1154
<i>Devibursaphelenchus wangi</i> *	292	160	372	824
<i>Ektaphelenchoides compasi</i>	288	160	292	762
<i>Ektaphelenchoides pini</i>	288	160	497	974
<i>Ektaphelenchoides poinari</i>	319	160	189	960
<i>Ektaphelenchus taiwanensis</i>	264	160	406	830
<i>Laimaphelenchus preissii</i>	257	159	213	629
<i>Robustodorus arachidis</i>	234	161	194	589
<i>Robustodorus megadorus</i>	299	161	161	840
<i>Ruehmaphelenchus asiaticus</i>	181	159	184	524
<i>Ruehmaphelenchus digitulus</i> *	213	161	252	626
<i>Ruehmaphelenchus juliae</i> *	323	162	319	804
<i>Ruehmaphelenchus thailandae</i> *	216	160	307	683
<i>Sheraphelenchus entomophagus</i>	367	160	388	915
<i>Sheraphelenchus entomophagus</i>	361	157	389	907

*Padrões moleculares com tamanhos estimados das subunidades que formam a região ITS por espécies filogeneticamente próximas.

Anexo 9. Tamanho dos amplicons da região ribossomal ITS para os padrões moleculares pertencentes a família Aphelenchoididae.

Gênero	Tamanho do gene COI (pb)
<i>Aphelenchoides arachidis</i>	812
<i>Aphelenchoides besseyi</i> consenso 1	825
<i>Aphelenchoides besseyi</i> consenso 2	821
<i>Aphelenchoides bicaudatus</i>	880
<i>Aphelenchoides fragariae</i>	706
<i>Aphelenchoides varicaudatus</i>	761
<i>Aphelenchoides ritzemabosi</i>	838
<i>Aphelenchoides subtenuis</i>	752
<i>Aphelenchoides xui</i>	759
<i>Bursaphelenchus abietinus</i>	970
<i>Bursaphelenchus antoniae</i>	1035
<i>Bursaphelenchus africanus</i>	736
<i>Bursaphelenchus arthuri</i>	865
<i>Bursaphelenchus anamurius</i>	1030
<i>Bursaphelenchus abruptus</i>	1174
<i>Bursaphelenchus arthuroides</i>	818
<i>Bursaphelenchus borealis</i>	900
<i>Bursaphelenchus braaschae</i>	982
<i>Bursaphelenchus clavicauda</i>	825
<i>Bursaphelenchus cocophilus</i>	904
<i>Bursaphelenchus conicaudatus</i>	895
<i>Bursaphelenchus corneolus</i> consenso	1060
<i>Bursaphelenchus corneolus</i>	1044
<i>Bursaphelenchus crenati</i>	932
<i>Bursaphelenchus doui</i>	903
<i>Bursaphelenchus eremus</i>	855
<i>Bursaphelenchus eggersi</i>	842
<i>Bursaphelenchus fagi</i>	742
<i>Bursaphelenchus firmae</i>	877

<i>Bursaphelenchus fraudulentus</i>	941
<i>Bursaphelenchus fungivorus</i>	980
<i>Bursaphelenchus gerberi</i>	1051
<i>Bursaphelenchus hellenicus</i>	960
<i>Bursaphelenchus hildegardae</i>	844
<i>Bursaphelenchus hofmanni</i>	959
<i>Bursaphelenchus hylobianum</i>	1032
<i>Bursaphelenchus koreanus</i>	859
<i>Bursaphelenchus kesiyae</i>	804
<i>Bursaphelenchus luxuriosae</i>	834
<i>Bursaphelenchus minutos</i>	823
<i>Bursaphelenchus macromucronatus</i>	890
<i>Bursaphelenchus masseyi</i>	907
<i>Bursaphelenchus mucronatus consenso 1</i>	842
<i>Bursaphelenchus mucronatus consenso 2</i>	846
<i>Bursaphelenchus okinawaensis</i>	853
<i>Bursaphelenchus osumiana</i>	937
<i>Bursaphelenchus obeche</i>	737
<i>Bursaphelenchus paraburgeri</i>	774
<i>Bursaphelenchus paracorneolus</i>	929
<i>Bursaphelenchus paraluxuriosae</i>	846
<i>Bursaphelenchus paraparvispicularis</i>	939
<i>Bursaphelenchus parapinasteri</i>	988
<i>Bursaphelenchus parathailandae</i>	800
<i>Bursaphelenchus parvispicularis</i>	894
<i>Bursaphelenchus pinophilus</i>	906
<i>Bursaphelenchus pinasteri</i>	946
<i>Bursaphelenchus platzeri</i>	1032
<i>Bursaphelenchus poligraphi</i>	893
<i>Bursaphelenchus Populi</i>	894
<i>Bursaphelenchus ratzeburgii</i>	872
<i>Bursaphelenchus rainulfi</i>	951
<i>Bursaphelenchus sinensis</i>	891

<i>Bursaphelenchus seani</i>	846
<i>Bursaphelenchus sexdentati consenso 1</i>	903
<i>Bursaphelenchus sexdentati consenso 2</i>	904
<i>Bursaphelenchus singaporensis</i>	837
<i>Bursaphelenchus thailandae</i>	803
<i>Bursaphelenchus tryphloei</i>	852
<i>Bursaphelenchus tusciae</i>	842
<i>Bursaphelenchus ulmophilus</i>	871
<i>Bursaphelenchus vallesianus consenso 1</i>	903
<i>Bursaphelenchus vallesianus consenso 2</i>	903
<i>Bursaphelenchus willibaldi</i>	1054
<i>Bursaphelenchus xylophilus consenso 1</i>	847
<i>Bursaphelenchus xylophilus consenso 2</i>	615
<i>Bursaphelenchus yongensis</i>	827
<i>Devibursaphelenchus eproctatus</i>	840
<i>Devibursaphelenchus hunanensis</i>	869
<i>Devibursaphelenchus lini</i>	878
<i>Devibursaphelenchus wangi</i>	944
<i>Ektaphelenchoides pini</i>	1015
<i>Ektaphelenchoides poinari</i>	863
<i>Ektaphelenchus taiwanensis</i>	894
<i>Laimaphelenchus preissii</i>	969
<i>Robustodorus megadorus</i>	778
<i>Ruehmaphelenchus digitulus</i>	692
<i>Ruehmaphelenchus asiaticus</i>	663
<i>Ruehmaphelenchus thailandae</i>	749
<i>Sheraphelenchus entomophagus consenso</i>	982
<i>Sheraphelenchus entomophagus</i>	994
