



**Universidade de Brasília**  
**Instituto de Ciências Biológicas**  
**Departamento de Fitopatologia**  
**Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia**

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata*) RESISTENTES AO NEMATOIDE-DAS-GALHAS**

**THAIS FRANÇA SILVA**

Brasília – DF

2021

**THAIS FRANÇA SILVA**

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata*) RESISTENTES  
AO NEMATOIDE-DAS-GALHAS**

Dissertação apresentada à Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia pelo Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia

**Orientador:**

Juvenil Enrique Cares

**Co-orientador:**

Jansen Rodrigo Pereira Santos

Brasília

Distrito Federal – Brasil

2021

## FICHA CATALOGRÁFICA

Silva, Thais França.

Seleção de genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) resistentes ao nematoide-das-galhas. / Thais França Silva.

Brasília, 2021.

68p.

Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília.

1. *Meloidogyne* - Identificação.

I. Universidade de Brasília. PPG/FIT.

II. Seleção de genótipos resistentes a *Meloidogyne*.

*DEDICATÓRIA*  
*A Jesus, meu Salvador*  
*e aos meus pais Eder e Cristiane*  
*dedico.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus por ter permitido que eu chegasse até aqui, por ter me dado forças e sabedoria quando precisei e ter me apoiado em todos os meus sonhos.

Aos meus pais, Eder França e Cristiane Silva por sempre estarem ao meu lado, pelo apoio, amor, carinho, atenção e dedicação que me deram por todo o período. Eu aprecio todo esforço que vocês fizeram para essa realização.

Aos meus irmãos Thales, Thamires e Alice, por terem feito momentos difíceis mais felizes, pela companhia e irmandade por todo esse período. Meus tios Delfonso Inácio e Sicília Nunes por sempre fazerem parte da minha caminhada.

Ao Gustavo por todo o apoio, motivação, oração e por sempre estar ao meu lado. Aos meus amigos Ana Clara, Juliana, Tiago, Karoliny, Leila, Elza, Mikarlla, Naiara, Ramon, Caio pelos momentos passados juntos, por tornar tudo mais leve e divertido, pelo companheirismo nas épocas difíceis e pela verdadeira amizade que cultivamos.

À Universidade de Brasília, Programa de Pós-graduação em Fitopatologia e aos professores do PPG/FIT por proporcionar ensinamentos e conhecimento profissional e pessoal para o desenvolvimento das atividades.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pelo apoio financeiro através da bolsa.

Aos professores Juvenil Cares e Jansen Santos, pelos ensinamentos, orientações, conselhos, suporte e companheirismo, sem os quais a realização deste trabalho não seria possível.

Aos membros desta banca, Dra. Mara Rúbia, Dr. Kaesel Jackson e Dr. Cleber Furlanetto cujas contribuições certamente elevaram o nível deste trabalho.

À Embrapa Meio-Norte por ceder sementes para o desenvolvimento do trabalho.

Ao Laboratório NemaFito, pela equipe e o espaço cedido.

A todos meus sinceros agradecimentos!

Trabalho realizado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação do Prof. Juvenil Enrique e coorientação do Prof. Jansen Rodrigo Pereira Santos, com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata*) RESISTENTES  
AO NEMATOIDE-DAS-GALHAS**

**THAIS FRANÇA SILVA**

DISSERTAÇÃO APROVADA em \_\_/\_\_/\_\_\_\_ por:

---

Profa. Mara Rúbia da Rocha (membro externo)  
Universidade Federal de Goiás

---

Dr. Kaesel Jackson Damasceno e Silva (membro externo)  
Embrapa Meio-Norte

---

Prof. Juvenil Enrique Cares  
Universidade de Brasília (Orientador – Presidente)

Brasília – Distrito Federal  
Brasil  
2021

Brasília – Distrito Federal  
Brasil  
2021

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	ii
LISTA DE FIGURAS .....	iii
RESUMO GERAL .....	iv
GENERAL ABSTRACT .....	v
1. INTRODUÇÃO .....	6
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	8
2.1 Cultura do Feijão-caupi.....	8
2.2. Problemas fitossanitários na cultura do feijão-caupi.....	10
2.3 <i>Meloidogyne</i> .....	12
2.4 Interação planta - <i>Meloidogyne</i> spp.....	15
2.5 <i>Meloidogyne</i> spp. em feijão-caupi.....	17
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	21
3.1 Área experimental e condições dos experimentos .....	21
3.2 Eletroforese de isoenzima para identificação das espécies de <i>Meloidogyne</i> e multiplicação em tomateiro.....	21
3.3 Extração de ovos de nematoides a partir de raízes de tomateiro.....	21
3.4 Teste de inóculo para <i>Meloidogyne javanica</i> .....	22
3.5 Inoculação e avaliação das reações dos genótipos de feijão-caupi a <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>M. javanica</i> .....	23
3.6 Avaliação da penetração e migração de <i>Meloidogyne incognita</i> em raiz de feijão-caupi .	25
4. RESULTADOS .....	27
4.1 Teste de inóculo para <i>Meloidogyne javanica</i> .....	27
4.2 Seleção para resistência a <i>M. javanica</i> .....	29
4.3 Seleção para resistência a <i>Meloidogyne incognita</i> .....	32
4.5 Avaliação da penetração e migração de <i>Meloidogyne incognita</i> em raiz de feijão-caupi .	35
5. DISCUSSÃO.....	37
6. CONCLUSÕES.....	44
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	45

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Genótipos de feijão-caupi avaliados e a reação para *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. 23
- Tabela 2. Temperaturas (°C) na casa de vegetação no período de realização dos experimentos na Estação Experimental de Biologia, Brasília, Distrito Federal, 2020. 24
- Tabela 3. Fator de reprodução (FR) de diferentes genótipos de feijão-caupi para diferentes concentrações de inóculo de *Meloidogyne javanica*, Brasília, Distrito Federal, 2020. 28
- Tabela 4. Reação de acessos de feijão-caupi inoculados com 15.000 ovos e eventuais juvenis de *Meloidogyne javanica*, baseada na população final (PF), massa fresca da raiz (MFR), nematoides por grama de raiz (NGR), fator de reprodução (FR), fator de reprodução corrigido (FRc) e índice de galhas (IG), Brasília, Distrito Federal, 2020. 31
- Tabela 5. Reação de acessos de feijão-caupi inoculado com 15.000 ovos e eventuais juvenis de *M. incognita*, baseada na população final (PF), massa fresca da raiz (MFR), nematoides por grama de raiz (NGR), fator de reprodução (FR), fator de reprodução corrigido (FRc) e índice de galhas (IG), Brasília, Distrito Federal, 2020. 34
- Tabela 6. Reação de acessos de feijão-caupi inoculado com 15.000 ovos e eventuais juvenis de *Meloidogyne incognita*, baseada na população final (PF), massa fresca da raiz em gramas (MFR), nematoides por grama de raiz (NGR), fator de reprodução (FR), fator de reprodução corrigido (FRc) e índice de galhas (IG), Brasília, Distrito Federal, 2020. 35

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Escala de notas de Bridge & Page (1980) dos níveis de infestação de nematoide-das-galhas em raízes. onde: 0 = sem galhas no sistema radicular; 1 = muito poucas, galhas pequenas nas raízes secundárias e de difícil visualização; 2 = muito poucas e pequenas galhas nas raízes secundárias podem ser vistas; 3 = galhas podem ser facilmente vistas na maioria das raízes, exceto na raiz principal, o tamanho varia de muito pequeno a pequeno; 4 = sistema radicular está obviamente com galhas, algumas galhas grandes podem ser vistas nas raízes secundárias e muito poucas saliências podem ser vistas na raiz principal; 5 = geralmente grandes galhas podem ser vistas no sistema radicular e a raiz principal é ligeiramente galhada com galhas de tamanhos diferentes; 6 = galhas grandes, raiz principal fortemente galhada; 7 = galhas grandes e galhas grandes coalescidas na raiz principal e secundárias, respectivamente; 8 = todas as raízes principais com galhas, 9 = todas as raízes severamente atacadas, planta morrendo, 10 = todas as raízes gravemente atacadas, nenhum sistema radicular presente, planta geralmente morta. .... 25
- Figura 2. Peso das raízes (PR) dos genótipos de feijão-caupi inoculados com *Meloidogyne javanica*, com populações iniciais de 0; 5.000; 10.000; 15.000 ou 20.000 ovos indivíduos/planta. \*Significativo a 5% de probabilidade. .... 27
- Figura 3. População final (PF) dos genótipos de feijão-caupi inoculados com *Meloidogyne javanica*, com populações iniciais de 0; 5.000; 10.000; 15.000 ou 20.000 ovos/planta. \*Significativo a 5% de probabilidade. .... 28
- Figura 4. Fator de Reprodução (FR) dos genótipos de feijão-caupi inoculados com *Meloidogyne javanica*, com populações iniciais de 0; 5.000; 10.000; 15.000 ou 20.000 ovos indivíduos/planta. \* Significativo a 5% de probabilidade. .... 29
- Figura 5. Exemplos de notas atribuídas às raízes de feijão-caupi após inoculação com *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. A: nota 1; B: nota 2; C: nota 3; D: nota 4; E: nota 5; F: nota 6; G: nota 7; H: nota 8; I: nota 9..... **Erro! Indicador não definido.**

## RESUMO

SILVA, Thais França. Seleção de genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) resistentes ao nematoide-das-galhas. 2021. 67p. (Dissertação Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, DF.

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) é uma leguminosa adaptada a regiões de climas tropicais, baixa necessidade de recursos hídricos e rusticidade que se adaptou bem às regiões Norte, Nordeste e Centro\_Oeste do Brasil, se tornando fonte de alimento básico e gerador de renda para pequenos e médios produtores, se destacando pelo seu valor nutritivo, com alto teor proteico. O nematoide-das-galhas, *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* causam danos substanciais ao sistema radicular, resultando em graves perdas de rendimento em cultivares suscetíveis. Um dos métodos mais eficientes e de baixo custo para reduzir perdas causadas por esses nematoides é a resistência genética. A resistência conferida pelo gene *Rk* presente em algumas cultivares, por anos foi eficaz para suprimir o nematoide-das-galhas, porém populações virulentas ao *Rk* foram encontradas em áreas de produção, necessitando a busca de novas fontes de resistência. O objetivo deste estudo foi gerar informações sobre a resistência genética de materiais brasileiros, como também selecionar fontes de resistência a *M. incognita* e *M. javanica*. Raízes de feijão-caupi de três genótipos foram inoculadas com suspensões de 0 (zero);  $5 \times 10^3$ ;  $10 \times 10^3$ ;  $15 \times 10^3$ ;  $20 \times 10^3$  ovos de *M. javanica* para avaliar os efeitos de níveis crescentes de inóculo do nematoide sobre o desenvolvimento vegetativo do feijão-caupi para futuras avaliações de resistência. Para avaliação da resistência, 18 linhagens e 6 genótipos controles de feijão-caupi foram inoculadas com 15.000 ovos e juvenis em delineamento experimental inteiramente casualizado com 24 tratamentos x 6 repetições x 2 repetições no tempo e avaliados 60 dias após a inoculação. A avaliação foi realizada pelas seguintes variáveis: Índice de galhas (IG), massa fresca da raiz (MFR), total de ovos e J2 (PF), total de ovos e J2/grama de raiz (NGR) e o fator de reprodução (FR). Buscando avaliar a penetração e formação de galhas da isolinha NIL-CB3-egg portadora de gene que permite a multiplicação do nematoide, mas não a formação de galhas foi utilizada o genótipo MNC-04-792F-158 como padrão de suscetibilidade. Foram inoculados 5.000 juvenis, com avaliações de três em três dias até o 28, por meio de raízes coradas com fucsina ácida. As concentrações de  $10 \times 10^3$  e  $15 \times 10^3$  ovos por planta conseguiram diferenciar estatisticamente os três genótipos, sendo as mais indicadas para a avaliação da resistência. Nenhum dos 18 genótipos da coleção de acessos de feijão-caupi da Embrapa Meio-Norte mostrou resistência a *M. javanica*, porém seis genótipos se comportaram com resistência a *M. incognita*, são eles: MNC06-895-1, MNC04-901-14, MNC06-909-68, MNCO4-907-35 e Am60-1. Foi observado que o gene *cb3* leva à redução no número e tamanho das galhas, favorecendo a formação de machos, que não é importante para o parasitismo. Diante da importância e das perspectivas de expansão da cultura do feijão-caupi os resultados deste estudo contribuem para o conhecimento de novas fontes de resistência que podem ser utilizadas em programas de melhoramento, como também demonstrou a necessidade de futuras pesquisas para seleção de materiais com resistência a *M. javanica*.

**Palavras-chave:** *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, resistência, triagem.

---

Orientador – Prof. Juvenil Enrique Cares – Universidade de Brasília.

## ABSTRACT

SILVA, Thais França. Selection of cowpea (*Vigna unguiculata*) genotypes resistant to the root-knot nematode. 2021. 67p. (Dissertation for Master's Degree in Plant Pathology) – Universidade de Brasília, Brasília, DF.

Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) is a legume adapted to regions of tropical climates, low need for water resources and rusticity, which has adapted well to the Northeast region of Brazil, becoming a source of basic food and income generator for small and medium growers, standing out for its nutritional value, due to its high protein content. The root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* cause substantial damage to the root system, leading to severe yield losses in susceptible cultivars. One of the most efficient and low-cost methods to reduce losses caused by these nematodes is genetic resistance. The resistance conferred by the *Rk* gene present in some cultivars, for years has been effective in suppressing the root-knot nematode, but virulent populations for *Rk* gene have been found in several growing areas, requiring the search for new sources of resistance. The objective of this study was to provide information on the genetic resistance of Brazilian materials, as well as, to select sources of resistance to *M. incognita* and *M. javanica*. Cowpea roots of three cowpea genotypes were inoculated with suspensions of 0 (zero);  $5 \times 10^3$ ;  $10 \times 10^3$ ;  $15 \times 10^3$ ;  $20 \times 10^3$  eggs of *M. javanica* to evaluate the effects of increasing levels of nematode inoculum on the vegetative development of cowpea for future resistance assessments. For resistance evaluation, 18 lines and 6 cowpea control genotypes were used, which were inoculated with 15,000 eggs and juveniles in a completely randomized experimental design with 24 treatments x 6 repetitions x 2 repetitions in time and evaluated 60 days after inoculation. The following variables were evaluated: gall index (IG), fresh root mass (MFR), total eggs and J2 (PF), numbers of eggs and J2 / gram of root (NGR) and the reproduction factor (FR). To evaluate root penetration and gall formation on the NIL-CB3-egg cowpea isolate carrying a gene that allows the nematode to multiply, but with no gall formation, the MNC-04-792F-158 line was used as a susceptibility pattern. Five-thousand juveniles were inoculated, with assessments every three days until the 28th, by means of roots stained with acid fuchsin. The concentration of  $10 \times 10^3$  and  $15 \times 10^3$  eggs per plant managed to statistically differentiate the three genotypes, being the most suitable for the evaluation of resistance. None of the 18 genotypes of the cowpea accession collection of Embrapa Meio Norte showed resistance to *M. javanica*, but six genotypes behaved with resistance to *M. incognita*, they are MNC06-895-1, MNC04-901-14, MNC06 -909-68, MNC04-907-35, Am60-1. It was observed that the *cb3* gene leads to a reduction in the number and size of galls, favoring male formation, which is not important for parasitism. Given the importance and expansion of the cowpea culture, the results of this study contribute to the knowledge on new sources of resistance that can be used in breeding programs, as well as stressing out the need of future research to select materials with resistance to *M. javanica*.

**Key words:** *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, resistance, screening.

## 1. INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), também conhecido como feijão-de-corda, feijão-vigna ou feijão-de-macassar é uma leguminosa pertencente a classe Dicotiledônea da ordem Fabales, cultura anual, herbácea, com hábito de crescimento geralmente indeterminado, de forma ereta, semiereta, semiprostrada ou prostrada (Wang *et al.*, 2017). A cultura é originária da África e tem seu maior centro de diversidade na África Ocidental, tendo um grande papel na alimentação básica, principalmente no Leste e Oeste da África e como fonte de proteína para ração animal (Ng & Padulosi, 1988; Timko *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2016). Foi introduzido no Brasil no século XVI e por ser uma cultura adaptada a regiões tropicais com baixas necessidades de recursos hídricos, foi bem aceita pela região Nordeste do país (Freire Filho, 2011). O feijão-caupi permite que pessoas de baixa renda, com limitado acesso à proteína animal tenham acesso a essa proteína vegetal, que ocorre em grande quantidade no feijão-caupi (Rocha *et al.*, 2017).

A produção mundial de feijão-caupi foi de aproximadamente 8,90 milhões de toneladas, com produtividade de 616,26 kg.ha<sup>-1</sup> em uma área plantada de 14,5 milhões de hectares (FAO, 2019). A produção nacional na última safra 2020/2021 foi estimada em 712,6 mil com produtividade média de 545 kg/ha (CONAB, 2021). Nos últimos anos pela modernização aplicada à agricultura, a cultura do feijão-caupi tem se expandido pelo Cerrado, especialmente, no período de safrinha, alcançando altas produtividades e qualidade (Silva *et al.*, 2016; do Vale *et al.*, 2017).

A presença de pragas e doenças em plantações de feijão-caupi pode comprometer sua produção e rendimento (Cardoso *et al.*, 2017). O nematoide-das-galhas, do gênero *Meloidogyne* é um dos principais nematoides encontrados em cultivos de feijão-caupi. É um endoparasita sedentário e seu parasitismo causa sintomas de deficiência mineral, mau desenvolvimento, amarelecimento e queda de folhas que resultam perdas significativas no rendimento da cultura (Adegbite, 2011). O controle químico, cultural, biológico e resistência da planta hospedeira são métodos utilizados para promover reduções nos níveis populacionais do nematoide e o bom desenvolvimento da cultura (Agrios, 2005).

O método de controle químico tem mostrado ser eficiente para redução da população de nematoides no campo (Tanimola *et al.*, 2017; Osei *et al.*, 2019) e o controle biológico pode ser usado como alternativa, sendo considerado ambientalmente inofensivos (El-Nagdi & Abd-El-Khair, 2017), embora no Brasil não haja registros de produtos químicos e biológicos registrados para feijão-caupi (AGROFIT, 2021). A utilização de rotação de culturas é um método eficiente

(Lima *et al.*, 2009), mas o devido ao fato desses organismos serem polívoros, compartilhando várias espécies de plantas hospedeiras, muitas vezes seu uso é limitado (Ritzinger & Fancelli, 2006; Lima-Medina *et al.*, 2013).

Um dos métodos mais eficientes e com menores custos para reduzir perdas causadas por esses organismos é a resistência genética (Starr *et al.*, 2002). Geralmente a resistência se baseia em impedir que sítios funcionais de alimentação sejam desenvolvidos pelo nematoide após a invasão, impedindo o patógeno de completar o ciclo de vida (Huang, 1985; Mattos *et al.*, 2019). Por alguns anos, um gene de resistência denominado *Rk* conferiu resistência ao nematoide-das-galhas, principalmente para supressão de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 e *M. hapla* Chitwood (1949) (Fery & Dukes, 1980).

Outros genes associados à resistência foram encontrados, como *Rk<sup>2</sup>*, mencionado por Roberts *et al.* (1996) na cultivar IT84S-2049, ligado ao locus *Rk*, e o recessivo *rk3* que foi encontrado no genótipo H8-8R, possibilitando uma resistência ampliada quando realizada a combinação genética com os genes *Rk* e o *Rk<sup>2</sup>* (Ehlers *et al.*, 2000). Além dessas fontes de resistência foram encontradas e identificadas como locos de características quantitativas (QTL) no genoma do feijão-caupi, com potencial para o controle do nematoide-das-galhas, designadas *QRk - vu11.1*, que tem grande impacto no índice de galhas e produção de massa de ovos, e *QRk - vu9.1*, que mostrou efeito aditivo na resistência quando combinada com outras fontes de resistência (Huynh *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2018). O sequenciamento do genoma do feijão-caupi possibilitou mapear e estudar melhor os genes até então encontrados (Lonardi *et al.*, 2019).

Embora esses genes sejam efetivos para um controle primário, populações virulentas de *M. incognita* e *M. javanica* ao gene *Rk* já foram encontradas (Roberts *et al.*, 1995; Ehlers *et al.*, 2000), isso porque espécies de *Meloidogyne* apesar de se reproduzirem por partenogênese, são organismos com alta plasticidade genômica, com capacidade de adaptação a ambientes diversos e de superar resistências (Blanc-Mathieu *et al.*, 2017). Dessa forma é de suma importância a identificação de novas fontes de resistência, com vistas a ampliação da base genética. Para isso, contamos com a disponibilidade de material genético presente em coleções de germoplasma no Brasil e em outros (Wetzel *et al.*, 2005; IITA, 2020).

Neste estudo objetivou-se selecionar genótipos de feijão-caupi resistentes às espécies *M. incognita* e *M. javanica*, fornecer informações sobre a resistência genética de materiais brasileiros de feijão-caupi; bem como estudar a interação de plantas resistentes com o

nematoide-das-galhas, visando melhorar a compreensão de atuação desses genes na defesa contra o patógeno.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Cultura do Feijão-caupi

O feijão-caupi, derivado do inglês “cowpea”, também conhecido como feijão-de-corda, feijão-de-praia, feijão-vigna, feijão-de-macassar ou feijão-miúdo, é uma leguminosa pertencente à classe Dicotiledônea da ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolineae, gênero *Vigna*, subgênero *Vigna*, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. e subespécie *unguiculata*, subdividida em quatro cultigrupos, Unguiculata, Sesquipedalis, Biflora e Textilis (Freire Filho *et al.*, 2011a; do Vale *et al.*, 2017).

Trata-se de uma cultura anual, herbácea que tem temperatura ideal de crescimento entre 18 °C a 28 °C. As vagens são cilíndricas, podendo ser curvadas ou retas. As sementes também são arredondadas e podem ter várias cores, branco, verde, amarela, marrom, preta, entre outras (Nwokolo & Ilechukwu, 1996). O hábito de crescimento é geralmente indeterminado, porte de planta ereto, semiereto, semiprostrado ou prostrado (Wang *et al.*, 2017). Dependendo do fotoperíodo e precocidade, o feijão-caupi pode florescer e produzir grãos secos de 60 até 150 dias (Timko & Singh, 2008). É uma planta autógama, cleistogâmica, ou seja, com abertura floral após a fecundação e apresenta baixas taxas de cruzamento (Sousa *et al.*, 2006), sendo necessário maior atenção no processo de produção de sementes com fatores que podem influenciar essa alogamia, como principalmente populações de insetos polinizadores (Blackhurst & Miller, 1980). Mesmo sendo uma planta autógama, existe uma alta variabilidade genética que pode ser explicada por segregações que podem ter acontecido por vários anos de produção, mutações e também resultados de melhoramento (Correa *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2015).

A cultura é originária da África e tem seu maior centro de diversidade na África Ocidental, tendo um grande papel para alimentação básica, principalmente no Leste e Oeste da África e como fonte de proteína para ração animal (Ng & Padulosi, 1988; Timko *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2016). Em comparação com outras fontes de proteína que podem diminuir o risco de fome para milhões de pessoas em regiões em condições críticas de segurança alimentar, o feijão-caupi tem se mostrado a mais promissora, em comparação a outras culturas, por ser adaptado a condições de altas temperaturas e secas. Assim, cerca de nove milhões de hectares de área plantada representa a principal fonte de proteína (Modesto Junior & Alves, 2012) sendo

uma alternativa viável para a combinação de solos, clima e sistema de produção no continente africano (Hall, 2004; Conselho Nacional de Pesquisa, 2006; Timko *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2016).

A dispersão da espécie pelo mundo se deu de formas distintas. Sua introdução ocorreu na Europa em torno de 300 a.C. e o seu cultivo não se tornou generalizado naquele continente, somente em algumas regiões ao Sul para produção de sementes e vagens (Karapanos *et al.*, 2017). O feijão-caupi foi introduzido no continente americano no século XVI pelos portugueses e espanhóis com o comércio de escravos. No Brasil, acredita-se que a introdução tenha ocorrido na Bahia, na segunda metade do século XVI acompanhando a colonização e disseminou-se por todo país (Freire Filho *et al.*, 2011a).

Segundo registros da FAO (2019) a produção mundial de feijão-caupi foi de aproximadamente 7,23 milhões de toneladas, com produtividade de 578,84 kg.ha<sup>-1</sup> em uma área plantada de 12,5 milhões de hectares. Os três maiores produtores são Nigéria (2,6 milhões de toneladas), Níger (1,0 milhão de toneladas) e Burkina Faso (414,7 mil toneladas). Porém esses valores são subestimados, pois países como o Brasil e a Índia não fazem separação da produção de feijão comum e o feijão-caupi em âmbito mundial.

A produção nacional na safra 2020/2021 foi estimada 712,6 mil toneladas, com área plantada de 1.307.800 ha. O Ceará é o estado com maior área plantada, chegando a 380,4 mil hectares, porém com produtividades de 305 kg.ha<sup>-1</sup>, inferiores às do Centro-Sul e Região Norte que chegam a 1376 kg.ha<sup>-1</sup>. É segundo feijão mais cultivado, ficando atrás apenas no feijão-comum, e tem sua safra concentrada no Nordeste brasileiro, com maiores produtividades principalmente no Piauí e Bahia. O maior produtor da última safra foi o estado de Mato Grosso com produção de 135,4 mil toneladas (CONAB, 2021).

A aceitação do feijão-caupi na região Nordeste se deve principalmente por ser uma cultura bem adaptada a regiões de climas tropicais e baixa necessidade de recursos hídricos, apresentando ciclo curto e rusticidade para se desenvolver em solos de baixa fertilidade. Na região Nordeste do país a cultura do feijão-caupi é geralmente cultivada por pequenos e médios produtores, com pouco uso de tecnologia e tem grande importância como alimento básico para as populações mais pobres, como também gera renda e emprego, estimulando a economia e fornecendo suprimento para uma cadeia produtiva que se desenvolve desde o agricultor familiar ao empresarial até o consumidor final (Silva *et al.*, 2016; do Vale *et al.*, 2017).

O Brasil passou por grandes mudanças tecnológicas, modernização e diversificação no setor produtivo e no agronegócio, que refletiram principalmente no aumento do custo de produção devido a necessidade de grandes volumes de fertilizantes e defensivos químicos, o

que por consequência leva os produtores a buscarem novas opções para se adequar aos novos arranjos produtivos (Freire Filho *et al.*, 2011a). Por esse motivo, atualmente está ocorrendo a expansão da cultura do feijão-caupi em áreas agrícolas do Cerrado, no período de safrinha, principalmente pelas características da cultura de tolerância a estresses hídricos e precocidade, permitindo uma produção em larga escala, com alta qualidade e regularidade que permite o alcance de mercados em outras regiões do país, chegando também ao exterior (Silva *et al.*, 2016; do Vale *et al.*, 2017).

O feijão-caupi também se destaca pelo alto valor nutritivo, com alto conteúdo proteico (23% a 25% em média), apresentando a maioria dos aminoácidos essenciais, carboidratos (62% em média), fibras alimentares, minerais e vitaminas (Rocha *et al.*, 2017). Além da utilização do feijão na alimentação como grão seco, grão verde e vagem verde, pode ser utilizado como substituto de farinha de trigo para preparação de biscoitos e acarajé (Frota *et al.*, 2008). Os restos culturais podem ser usados na alimentação animal, principalmente quando a proporção de folhas é maior que a de ramos (Cardoso *et al.*, 2017), e como visto na África do Sul a utilização de feno de feijão-caupi tem mostrado resultados satisfatórios na alimentação de caprinos como suplemento proteico para pastagens de baixa qualidade (Katsande *et al.*, 2016).

## **2.2. Problemas fitossanitários na cultura do feijão-caupi**

A presença de pragas e doenças em plantações de feijão-caupi pode comprometer sua produção e rendimento (Cardoso *et al.*, 2017). De acordo com Silva (2017), as principais pragas do feijão-caupi são: paquinha, lagarta-elasma, vaquinha, cigarrinha-verde, pulgões, mosca-branca, tripes e percevejos. Entre as principais doenças fúngicas temos o tombamento (*Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, 1858) ou *Pythium* spp.; podridão-cinzenta-da-raiz (*Fusarium solani* (Mart.) Sacc., 1881); podridão-cinzenta-do-caule (*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., 1947); murcha-de-fusário (*Fusarium oxysporum* Schltdl. (1824)]; mela (*Thanatephorus cucumeris* (A.B. Frank) Donk, 1952); podridão-de-esclerócio (*Sclerotium rolfsii* Sacc., 1911) e; oídio (*Erysiphe difusa* (Cooke & Peck) U. Braun & S. Takam., 2000). As doenças bacterianas mais importantes são a mancha-bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *vignicola* Starr & Garces 1950) e pústula-bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* Starr & Garces, 1950). Entre as viroses destacam-se o mosaico-severo-do-feijão-caupi (*Cowpea severe mosaic virus*) e o vírus-do-mosaico-dourado-do-feijão-caupi (*Cowpea golden mosaic virus*). Os principais nematoides que causam problemas no feijão-caupi são: nematoides-das-galhas (*Meloidogyne* spp.); Nematóide-das-lesões-radiculares (*Pratylenchus* spp.); nematóide-

reniforme (*Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940) e; nematoide de cisto (*Heterodera* spp.) (Athayde Sobrinho, 2016).

Nematoides do gênero *Pratylenchus* fazem parte da família Pratylenchidae e são endoparasitas migradores que se movem dentro e entre as raízes e o solo, podendo penetrar e sair de um órgão vegetal repetidas vezes, todos os estádios móveis, identificados como os estádios infectantes (Castillo & Vovlas, 2007). Causam deficiência mineral, sistema radicular escurecido, lesões necróticas nas raízes e amarelecimento das folhas, levando a baixa produção (Ferraz & Brown, 2016). A espécie mais comum desse gênero na cultura é *P. brachyurus* (Godfrey, 1929) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941 causando perdas de produtividade no feijão-caupi por reduzir o crescimento das plantas e no desenvolvimento de vagens (Siqueira & Inomoto, 2008; Inomoto & Asmus, 2010). O controle mais indicado é a rotação de culturas com plantas não hospedeiras e resistência genética (Dias *et al.*, 2010).

*Rotylenchulus reniformis* é a espécie mundialmente mais importante do gênero *Rotylenchulus* (Lira *et al.*, 2018). No feijão-caupi, com ciclo de 2,5 a 4 semanas, causa amarelecimento das folhas e redução do porte das plantas por prejudicar a passagem de água e nutrientes das raízes para as folhas, também são observadas raízes pouco desenvolvidas e um reduzido número de raízes secundárias (Chandra & Khan, 2010; Ferraz & Brown, 2016). No Brasil, os métodos de controle que estão sendo pesquisados e utilizados são rotação de cultura, tratamento de semente, controle biológico (Bernardo & Santos 2004; Asmus & Richetti, 2010; Kubo *et al.*, 2012). O controle químico e resistência genética também estão sendo utilizados para esse patógeno (Singh & Prasad, 2016).

Nematoides do gênero *Heterodera*, principalmente *Heterodera glycines* Ichinohe (1952) (Silva *et al.*, 1997) *Heterodera cajani* Koshy (1967), que se encontra como praga quarentenária A1 (MAPA, 2018) se caracterizam por serem endoparasitas sedentários, com sua forma de alimentação complexa e elaborada, podendo sobreviver por longos períodos no solo na ausência de planta hospedeira sob a forma de ovos no interior do cisto (Riggs & Schmitt, 1987; Mizobutsi *et al.*, 2012). Em geral, em uma raiz infectada pode-se observar fêmeas na superfície e a intensa atividade dos nematoides leva a aspectos de deficiência mineral, vagens com tamanhos reduzidos, também pode ser observada redução nas concentrações de nitrogênio, fósforo, potássio e micronutrientes nas plantas infectadas (Abouleid *et al.*, 2015).

O nematoide-das-galhas, pertencente ao gênero *Meloidogyne* é um endoparasita sedentário que, em geral causa sintomas de deficiência mineral, amarelecimento, baixo crescimento e queda das folhas. Geralmente esses sintomas ocorrem em reboleira. O nematoide libera secreções nos tecidos das plantas resultando em hipertrofia e hiperplasia, respectivamente

formando os sítios de alimentação e as galhas nas raízes (engrossamento da raiz) (Pinheiro *et al.*, 2019 Ferraz & Brown, 2016). Está entre os principais nematoides encontrados em cultivo de feijão-caupi, e sua presença pode gerar perdas significativas no rendimento da cultura (Adegbite, 2011), como mencionado por Charchar *et al.* (1995) que *M. incognita* e *M. javanica* juntas causam perdas econômicas que podem chegar a 31%.

### **2.3 *Meloidogyne***

Os organismos que se encontram no gênero *Meloidogyne*, conhecidos como nematoide-das-galhas, são nematoides pertencentes ao reino Animalia, filo Nematoda, classe Chromadorea, ordem Rhabditida, subordem Tylenchina, Infraordem Tylenchomorpha, Superfamília Tylenchoidea e família Meloidogynidae (De Ley & Blaxter, 2002, 2004).

Os nematoides desse gênero são endoparasitas sedentários obrigatórios e polípagos. Em relação à morfologia, os adultos apresentam dimorfismo sexual, em que as fêmeas apresentam o corpo em formato periforme com região anterior formando um “pescoço”, são esbranquiçadas e brilhantes, com tamanhos de 0,5 a 1,0 mm de comprimento e 0,3 a 0,6 mm de largura, e os machos são vermiformes e possuem cerca de 1,2 a 1,5 mm de comprimento (Eisenback 1985; Tihohod, 1997; Ferraz, 2018)

O ciclo de vida desses nematoides começa quando as fêmeas depositam os ovos em massas gelatinosas, os mantendo juntos e protegidos contra fatores ambientais adversos e predação, sendo essas massas de ovos encontradas na superfície ou interior de raízes. Ainda dentro do ovo o juvenil de primeiro estágio (J1), passa por ecdise se transformando em juvenil de segundo estágio (J2), que é conhecido como o estágio móvel e infeccioso. Após a eclosão, migra no solo, penetra a raiz e estabelecem o sítio de alimentação no cilindro central, na zona de alongação da raiz. As células gigantes multinucleadas são formadas no parênquima vascular e os nematoides se tornam sedentários. Quando em condições favoráveis, o J2 passa pela segunda ecdise ao terceiro estágio (J3) e após alguns dias para o quarto estágio (J4), nos estádios J3 e J4 os nematoides são desprovidos de estilete e não se alimentam e, finalmente após a quarta ecdise para o estágio adulto, macho ou fêmea (Moens *et al.*, 2009). Apenas a fêmea continua se alimentando, enquanto o macho que não se alimenta migra para o solo.

A indução do sítio de alimentação é acompanhada de reações de hiperplasia celular no tecido cortical resultando em um engrossamento das raízes, conhecido como galha. Sintomas reflexos do parasitismo na raiz aparecem na parte aérea, como crescimento inadequado, nanismo, enfezamento, murcha, clorose e outros sintomas de deficiências nutricionais nas

folhas, sintomas geralmente observados em reboleiras (Ferraz & Brown, 2016; Assoumana *et al.*, 2017; Song *et al.*, 2017).

O gênero *Meloidogyne* compreende mais de 100 espécies e pode afetar mais de 5000 plantas hospedeiras, sendo variável a gravidade dos danos dependentes da espécie do nematoide, do hospedeiro, tipo de solo e estação do ano (Trudgill & Blok, 2001; Khan *et al.*, 2017). Os nematoides-das-galhas são prejudiciais às principais plantas cultivadas, diminuindo o rendimento e por vezes diretamente no produto final, gerando perdas econômicas no Brasil e no mundo (Abadiyah *et al.*, 2016). No Brasil, várias culturas são afetadas, a exemplo de fruteiras e hortaliças (Molina & Costa, 2008; Dias-Arieira *et al.*, 2010; Jorge Junior, 2016; Silva *et al.*, 2016). Em tomateiros o potencial de danos e perdas podem variar de 25 a 100% quando o patógeno está presente (Seid *et al.*, 2015). Na cultura da alface, podem ser observadas perdas significativas dependendo da população do nematoide em campo (Rabello, 2010). Em culturas anuais, perdas significativas podem ser observadas em soja, por exemplo, pode reduzir até 52% do rendimento de grãos (Carneiro *et al.*, 2019), em cultivares suscetíveis de algodão quando plantado em áreas infestadas podem ocorrer perdas de 20 a 50% (Asmus & Galbieri, 2013). Na cultura do feijão-caupi em áreas infestadas foi observado o atraso na floração e perda de 33 a 39% de rendimento de grãos (Adegbite, 2011). Além dos danos diretos, esses organismos ainda podem desenvolver complexos dinâmicos com bactérias e fungos que podem intensificar a incidência de doenças (Bernard *et al.*, 2017).

A correta diagnose desses nematoides é de bastante importância para o sucesso de táticas de manejo apropriadas. Atualmente na nematologia são utilizadas abordagens de taxonomia integrativa de identificação taxonômica onde são utilizados métodos de identificação morfológicos, bioquímicos e moleculares (Oliveira *et al.*, 2011). Na identificação morfológica, que leva em consideração as características descritivas dos nematoides, o método de observação do padrão perineal de fêmeas já foi bastante utilizado (Hartman & Sasser, 1985), e para os machos o formato da região labial, mensuração do estilete e a distância da abertura da glândula esofagiana dorsal aos nódulos do estilete são utilizadas (Eisenback & Triantaphyllou, 1991). Para o método bioquímico, a análise de isoenzimas por eletroforese em gel de poliacrilamida é simples e de baixo custo, justificando seu uso rotineiro em laboratórios (Ito *et al.*, 2019). O método molecular utiliza técnicas de PCR e sequenciamento e estão sendo cada vez mais implantadas por sua confiabilidade, pois baseiam-se no DNA do indivíduo (Amorim *et al.*, 2019).

Produtores que adotam sistema de produção intensivo geralmente experimentam problemas causados por *Meloidogyne* spp., principalmente com relação a culturas perenes e

aquelas altamente suscetíveis à uma determinada espécie do patógeno, pois apesar das medidas de controle, é impraticável a erradicação dos fitonematoides de um campo infestado (Ferraz & Brown, 2016). O controle químico, cultural, biológico e resistência da planta hospedeira são os métodos utilizados para promover reduções nos níveis populacionais e o bom desenvolvimento da cultura (Agrios, 2005).

Dentre os métodos de controle mais utilizados, o controle químico se mostra eficiente para redução da população de nematoides no campo, embora o uso dos nematicidas tenha diminuído em algumas regiões do mundo, devido aos riscos ambientais ligados ao uso e ao custo de aquisição (Tanimola *et al.*, 2017; Osei *et al.*, 2019). Em cultivos de feijão-caupi, o controle químico tem mostrado resultados significativos na supressão e reprodução de nematoides, resultando em baixos índices de galhas radiculares e redução da população de nematoides no solo e nas raízes (Babatola & Omotade, 1991; Tanimola *et al.*, 2017). No Brasil não existem nematicidas químicos registrados especificamente para feijão-caupi, somente para feijão-comum (AGROFIT, 2021)

O uso de rotação de culturas é um método eficiente para o controle do nematoide-das-galhas, utilizando a resistência de não hospedeira e o antagonismo de plantas, que além de melhorar as condições químicas, físicas e biológicas do solo, evitam a erosão (Derpsch & Calegari, 1992; Lima *et al.*, 2009). A rotação de culturas pode ser realizada com culturas não hospedeiras, podendo-se citar o sorgo para controle de *M. incognita* e *M. arenaria* Neal (1889) Chitwood, 1949 onde foi relatado que seu uso ocasionou aumento da produtividade de culturas (Carneiro *et al.*, 1998; Lima *et al.*, 2009). O desafio do manejo desses nematoides com o uso de rotações de culturas deve-se ao fato de serem polífagas, compartilhando várias espécies de plantas hospedeiras, como também o fato da prática levar o produtor a abrir mão de semear a cultura que lhe dá maior retorno econômico, diminuindo sua aceitabilidade (Ritzinger & Fancelli, 2006; Lima-Medina *et al.*, 2013).

Agentes de biocontrole como alternativas às substâncias químicas também são promissores e estão sendo consideravelmente utilizados, pois podem controlar eficientemente os patógenos de solo e são considerados ambientalmente seguros e inofensivos aos mamíferos e organismos benéficos do solo (El-Nagdi & Abd-El-Khair, 2017). Um estudo realizado com *Trichoderma harzianum* Rifai, 1969 e *Pseudomonas fluorescens* Migula, 1895 para controle de *M. incognita* reduziu o número de galha nas raízes, massa de ovos e severidade da doença (Nama & Sharma, 2017). *Pseudomonas* spp. também podem ser utilizadas como promotoras de crescimento, aprimorando o mecanismo de defesa da planta que leva à resistência (Mukherjee & Sinha Babu, 2012). Entretanto, os agentes de controle biológico podem ter

respostas diferentes dependendo de temperatura, hospedeiras e outros fatores (López *et al.*, 2018).

A resistência de plantas é um dos métodos mais utilizados para controle desses nematoides (Nyczepir & Thomas, 2009). A identificação de genes de resistência pode ser um componente importante para o manejo quando se considera a importância na hibridação introgressiva que podem bloquear ou suprimir alguma das etapas do ciclo infeccioso dos nematoides (Williamson & Roberts, 2009). A pesquisa e a utilização de cultivares resistentes aos nematoides-das-galhas são realizadas no mundo inteiro e têm se mostrado eficaz como método de redução de populações e danos (Molinari, 2010; Burelle & Roskopf, 2011; Mukhtar *et al.*, 2014; Devran & Baysal, 2018).

#### **2.4 Interação planta - *Meloidogyne* spp.**

Os J2 recém-eclodidos, localizam as raízes das hospedeiras por quimiotaxia, quando eles detectam os exsudatos vegetais (Reynolds *et al.*, 2011). Os nematoides que parasitam plantas desenvolveram diferentes estratégias que permitem sua infecção e trajetória bem-sucedida em suas hospedeiras (Nguyễn *et al.*, 2014). A secreção de várias proteínas, denominadas de efetores, levam à degradação da parede celular, suprimindo a defesa e manipulando vias de sinalização das hospedeiras (Haegeman *et al.*, 2012). Estruturas do corpo do nematoide, como o estilete, glândulas esofagianas e cutícula são as grandes responsáveis por liberação das secreções para o parasitismo efetivo (Spiegel & McClure, 1995; Jauber *et al.*, 2002). Para penetração dos juvenis é necessário a degradação da parede celular das plantas, que funcionam como barreira composta principalmente por celulose e hemicelulose (Cosgrove, 2005).

A quebra da barreira é feita mecanicamente, pelo estágio infeccioso J2 introduzindo o estilete, como também utilizando enzimas liberadas pelas glândulas esofagianas (Davis *et al.*, 2000; Roze *et al.*, 2008; Rosso *et al.*, 2011). Em espécies de *Meloidogyne* são conhecidas algumas enzimas como a beta-1,4-endoglucanase, a pectato-liase, poligalacturonase, as xylanases, peptidases, proteinases, entre outras (Adam *et al.*, 2008; Bellafiore *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2011; Vieira *et al.*, 2011). Foram identificadas 486 proteínas secretadas por *M. incognita* que permitem seu parasitismo em plantas, entre elas várias proteínas homólogas às proteínas vegetais, que podem estar associadas à regulação e crescimento celular, proteínas responsáveis por desintoxicação de espécies reativas de oxigênio, formação de células gigantes e modificação da parede celular da planta (Bellafiore *et al.*, 2008).

As plantas são atacadas por uma grande quantidade de patógenos e para se defenderem, dependem da imunidade inata das células e de sinais que derivam de locais de infecção, que as tornam resistentes à maioria dos patógenos (Chisholm *et al.*, 2006). A ativação do sistema de defesa das plantas acontece em duas etapas, a primeira delas é desencadeada quando alguma estrutura do patógeno, conhecida como PAMP's (do inglês: *Pathogen-Associated Molecular Pattern*) é reconhecida pela planta por receptores de reconhecimento padrão (PRR's) que resulta em uma resposta de imunidade desencadeada pelo PAMP (*PAMP-triggered immunity* - PTI), que é coordenada por linhas de sinalização que se constituem em fitohormônios (ácido salicílico, etileno e ácido jasmônico) que inicialmente podem causar interferência na colonização (Erb *et al.*, 2012). Quando o patógeno consegue interferir na primeira etapa de defesa da planta, tendo sucesso, resulta em suscetibilidade desencadeada pelo efector (*Effector-triggered susceptibility* - ETS), que também pode ser reconhecida pelos receptores das plantas e assim ocorrer a imunidade desencadeada pelo efector (*Effector-triggered immunity* - ETI), sendo a segunda resposta de defesa da planta, geralmente esse processo causa a morte celular no local de infecção, pela reação de hipersensibilidade (RH) (Jones & Dangl, 2006). As plantas utilizam uma variedade de estratégias de defesa, como a produção de fitoalexinas, terpenoides e isoflavonoides, espécies reativas de oxigênio, que é uma das primeiras respostas de defesa da planta e que está ligada ao fortalecimento e espessamento das paredes celulares (Jasmer *et al.*, 2003; Rosso *et al.*, 2011; Haegeman *et al.*, 2012).

As proteínas de vigilância das plantas que as protegem de patógenos são produtos de genes específicos de resistência (genes R) (Williamson & Kumar, 2006). De acordo com a teoria gene-a-gene de Flor (1956), para cada gene de resistência existente no hospedeiro há um gene de avirulência no patógeno (Avr). O gene R reconhece o Avr do parasita ocorrendo uma interação genética, que resulta em uma ativação de resposta de defesa que impede o desenvolvimento do patógeno (Jasmer *et al.*, 2003).

Genes de resistência contra *Meloidogyne* foram clonados e mapeados, como o gene *Mi-1* (Milligan *et al.*, 1998; Vos *et al.*, 1998), *Mi-3* (Yaghoobi *et al.*, 2005), *Mi-9* (Ammiraju *et al.*, 2003), *Me3* (Djian-Caporalino *et al.*, 2001), *Rmc1* (Roupe van der Voort *et al.*, 1999), *Rk* e *Rk<sup>2</sup>* (Petrillo *et al.*, 2006). Geralmente a resistência se baseia em impedir que sítios funcionais de alimentação sejam desenvolvidos pelo nematoide após a invasão, impedindo a finalização do ciclo de vida, como observado por Mattos *et al.* (2019) que encontraram uma nova fonte de resistência em *Oryza glumaepatula* Steud. a *M. graminicola* Golden & Birchfield, 1965, onde foi observada após dois dias da inoculação com J2 a RH das plantas, acompanhada de poucos J2 estabelecidos e raras células gigantes. Albuquerque *et al.* (2010) mostraram que plantas

resistentes de café (*Coffea arabica* L.) não permitiram a indução de células gigantes, o estabelecimento de sítios de alimentação e a maioria dos nematoides que penetraram na raiz não foram capazes de se transformar em estágios mais avançados de desenvolvimento, mostrando a eficiência dos genes de resistência em impedir o desenvolvimento do patógeno. Das *et al.* (2008) mostraram que plantas que apresentavam o *locus Rk*, apresentaram diferenças na vacuolização de células gigantes, que afetava o desenvolvimento dos nematoides.

## **2.5 *Meloidogyne* spp. em feijão-caupi**

Embora mais de 30 espécies de nematoides já terem sido associadas a essa cultura, os nematoides do gênero *Meloidogyne* com destaque para os das espécies *M. incognita* e *M. javanica*, é considerado o grupo de nematoides mais importante para a cultura do feijão-caupi por causar redução na produtividade (Fery *et al.*, 1994; Gómez, 2004; Silva & Athayde Sobrinho, 2017). A colonização desses organismos nas raízes de feijão-caupi causa perda de eficiência na captação de água e nutrientes pelo sistema radicular, com sintomas reflexos como crescimento reduzido, sistema radicular escurecido, deficiência nutricional, redução de vigor e redução do tamanho das folhas (Villesh *et al.*, 2015). Com base no arsenal gênico das plantas relacionados a mecanismo de defesa, um dos métodos mais eficientes e com menores custos para a redução das perdas causadas por esses microrganismos é a resistência genética (Starr *et al.*, 2002).

No feijão-caupi, por muitos anos, um único loco foi considerado para conferir resistência ao nematoide-das-galhas, denominado *Rk* (Fery & Dukes, 1980). O loco *Rk* se mostrou dominante para a supressão eficaz de isolados de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. hapla*. Geralmente a resistência pós-infecção está associada à morte celular que é resultante da resposta de reação de hipersensibilidade (Phan *et al.*, 2018). Porém um estudo realizado por Das *et al.* (2008) mostrou que os nematoides-das-galhas foram capazes de iniciar e manter células gigantes aparentemente saudáveis em plantas de feijão-caupi que apresentam o *locus Rk*, mas a partir de nove dias após a infecção foram observadas diferenças significativas na vacuolização das células gigantes, onde os autores acreditaram ser preenchidas com hidrolases e toxinas que privaram o nematoide de receber os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento, quando comparadas a raízes de plantas suscetíveis. Também não houve diferença na produção de espécies reativas de oxigênio entre plantas suscetíveis e aquelas com o gene *Rk* concluindo que a resistência mediada por esse gene envolve uma reação de resistência retardada, onde os nematoides penetram, porém, não se desenvolvem normalmente.

Outros genes foram encontrados associados à resistência do nematoide-das-galhas, como  $Rk^2$  e  $rk3$ . O  $Rk^2$  foi introduzido por Roberts *et al.* (1996) quando observaram a alta resistência do acesso IT84S-2049 que era resistente à população de *M. incognita* virulenta ao gene  $Rk$  e concluíram que a alta resistência era controlada por um único gene completamente dominante e associada ao *locus Rk* resultando em uma resistência dominante adicional. O  $rk3$  é um **alelo recessivo** que foi estudado no genótipo H8-8R e, através de cruzamentos, mostrou ser o primeiro gene não ligado ao *locus Rk*, ocorrendo uma resistência ampliada quando há combinação do  $Rk$  com o  $rk3$ , abrindo novas possibilidades de combinações gênicas que pode resultar em formas de resistência mais eficazes comparadas com aquela conferida apenas pelo  $Rk$  (Ehlers *et al.*, 2000).

Um estudo recente com o objetivo de desenvolver marcadores para seleção de resistência identificou um importante QTL no genoma do feijão-caupi, designado  $QRk - vu11.1$ , com grande impacto sobre o índice de galhas e produção de massa de ovos (Huynh *et al.*, 2015). O  $QRk-vu11.1$  é um loco multialélico onde se localiza o loco  $Rk$  encontrado em 1980 por Fery & Dukes.

Outra fonte de resistência foi encontrada em um novo QTL nomeado  $QRk-vu9.1$ , confirmada por genotipagem e que não corresponde ao *locus Rk<sup>2</sup>*, conforme era esperado. Esse novo QTL trata-se de um novo loco que mostrou um efeito aditivo de resistência quando combinado com  $QRk-vu11.1$ , interferindo no desenvolvimento de *M. incognita* e *M. javanica* em estágios iniciais de infecção (Santos *et al.*, 2018). Essas descobertas conjuntamente com o sequenciamento do genoma do feijão-caupi possibilitaram mapear os grupos de ligação nos cromossomos, sendo o  $QRk-vu11.1$  mapeado no cromossomo Vu04 e o  $QRk-vu9.1$  no cromossomo Vu11 (Ndeve *et al.*, 2018; Santos *et al.*, 2018; Lonardi *et al.*, 2019). Além desses, outra fonte de resistência foi encontrada no cromossomo Vu01 que teve contribuição na variação fenotípica com plantas infectadas com populações de *M. incognita* e *M. javanica* virulentas ao gene  $Rk$  (Ndeve *et al.*, 2018).

Essas fontes de resistência foram introduzidas em cultivares nos Estados Unidos e na zona tropical da África (Hall, 2004), e embora esses genes sejam efetivos para um gerenciamento primário desses nematoides, isolados virulentos de *M. incognita* para o gene  $Rk$  foram encontrados, como também esses genes mostraram ter baixa ou quase nenhuma expressão de resistência à maioria das populações de *M. javanica* (Roberts *et al.*, 1995; Ehlers *et al.*, 2000). Estudos realizados com cultivares brasileiras de feijão-caupi mostraram que poucos materiais com resistência aos principais nematoides causadores de danos nessa cultura estão disponíveis, como observado por Torres Junior (2018), que todas as cultivares avaliadas

apresentaram fator de reprodução (FR) > 1,0, demonstrando potencial suscetibilidade a *M. incognita*. Magalhães (2018) avaliou cinco cultivares brasileiras ao parasitismo de *Meloidogyne* spp. e observou que somente a cultivar “Sempre Verde” foi resistente a todas as espécies testadas. Outro trabalho recente que buscou fontes de resistência em cultivares comerciais brasileiras encontrou duas cultivares resistentes a *M. incognita* e *M. javanica*, são elas BRS Milênio e BRS Imponente (Dias, 2020).

O conhecimento e utilização da resistência baseada em um conjunto de genes é eficaz para diversas populações do nematoide-das-galhas, porém não se sabe ao certo a especificidade para diferentes espécies de *Meloidogyne*, além do mais os nematoides pertencentes a esse gênero, apesar de se reproduzirem por partenogênese, são organismos poliploides, sugerindo que essa condição pode apoiar uma diversidade de funções e uma melhor aptidão em diversos ambientes, inclusive no sucesso parasitário e supressão de resistência (Blanc-Mathieu *et al.*, 2017). Como também, a presença considerável de elementos transponíveis nesses organismos tem impacto funcional, desempenhando um papel na plasticidade do genoma, também atuando na superação de resistência (Kozłowski *et al.*, 2020), apresentando assim, considerável variabilidade com diferentes níveis de virulência, sendo necessário a constante busca de fontes adicionais de resistência a esses patógenos (Ndeve *et al.*, 2018).

Para o melhoramento e desenvolvimento de novas populações e cultivares de feijão-caupi contamos com a disponibilidade de material genético presente em coleções de germoplasma no Brasil e no mundo, disponíveis em quatro tipos: Coleção de base de âmbito internacional, que tem como principal objetivo assegurar o material genético para os programas de melhoramento de todos os países que tiverem interesse. No caso do feijão-caupi a coleção base está localizada no IITA (*International Institute of Tropical Agriculture*) na Nigéria, contendo cerca de 16.650 acessos coletados em 100 países (Freire Filho *et al.*, 2011b; IITA, 2020). A Coleção de base de âmbito nacional pertence a Embrapa Cenargen (Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia) contendo em torno de 4.000 acessos (Wetzel *et al.*, 2005). A Coleção ativa, que se localiza na Embrapa Meio-Norte possui aproximadamente 3.500 acessos e no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, com cerca de 941 acessos (Freire Filho, 2011b; Teófilo *et al.*, 2013; Holanda *et al.*, 2019). As coleções de trabalho, restritas ao manuseio do melhorista estão localizadas na Embrapa Meio-Norte, no Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) e na Embrapa Semiárido. Outras instituições como o USDA, University of California – Riverside, *World Vegetable Center* e o *Institute of Plant Industry* também contam com grandes coleções de germoplasma (CGIAR, 2020)

O melhoramento do feijão-caupi no Brasil tem como principais objetivos incrementar a adaptabilidade, produtividade, porte, resistência a doenças e pragas como também aumentar teores nutricionais (Freire Filho *et al.* 2011a). A existência de populações virulentas de *Meloidogyne* ao gene *Rk* em áreas de produção de feijão-caupi tornaria a resistência mediada por esse gene ineficiente. Além disso, os efeitos da pressão de seleção levam os nematoides-das-galhas a superar a resistência, o que torna necessário identificar e incorporar fontes adicionais de resistência no desenvolvimento de novas cultivares.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Área experimental e condições dos experimentos**

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação na Estação Experimental de Biologia (EEB) da Universidade de Brasília (UnB). As avaliações foram realizadas no Laboratório de Nematologia da EEB e no Laboratório de Nematologia Vegetal do Departamento de Fitopatologia da UnB. Todos os experimentos foram conduzidos em sacos plásticos de 4 litros contendo uma mistura de solo, areia esterilizada e substrato comercial Bioplant® autoclavado na proporção de 2:1:1. Foram feitas adubações com NPK 4-14-8 no plantio e adubação de cobertura 30 dias após o plantio (DAP) com osmocote. A irrigação foi realizada diariamente e o controle de pragas e doenças ocorreu de acordo com a necessidade.

#### **3.2 Eletroforese de isoenzima para identificação das espécies de *Meloidogyne* e multiplicação em tomateiro**

O inóculo de *M. incognita* raça 3 foi obtido na região Oeste da Bahia por Lopes *et al.* (2019) e o de *M. javanica* na Região Integrada de Desenvolvimento Econômico do Distrito Federal e Entorno (RIDE) (Alves, 2015), os quais foram mantidos em plantas de tomate cv. Santa Clara. Para confirmação do inóculo foram extraídas fêmeas jovens utilizando um microscópio estereoscópio com auxílio de pinça e estilete, que em seguida foram colocadas em tubos com solução tampão de extração (3 a 5 µl de solução de sacarose + Triton X 100). Os tubos permaneceram em recipiente de isopor com gelo durante todo o processo.

A eletroforese izoenzimática foi realizada em aparelho vertical modelo LCV – 10 x 10 NC (Loccus do Brasil), seguindo a metodologia descrita por Esbenschade & Triantaphyllou (1990), adaptada por Alonso & Alfenas (1998). Para a identificação dos nematoides foi utilizado um diagrama de bandas, com fenótipos de esterase, tendo *M. javanica* como padrão (Carneiro *et al.*, 2016). Após a identificação das espécies de *Meloidogyne*, os nematoides foram multiplicados em tomateiros cv. ‘Santa Clara’ (*Solanum lycopersicum* L.) mantidas em casa de vegetação para posterior extração de ovos.

#### **3.3 Extração de ovos de nematoides a partir de raízes de tomateiro**

Após 90 dias da inoculação das plantas de tomate, as raízes foram separadas, lavadas em água corrente, fracionadas em pedaços de 1 a 3 cm e trituradas em liquidificador por 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) na concentração de 0,5 % para obtenção dos ovos de acordo com a técnica desenvolvida por Coolen & D’Herde (1972) onde as raízes

foram trituradas e transferidas para uma sequência de peneiras com diferentes tamanhos: 60, 200 e 500 mesh. Os ovos que ficaram retidos na peneira de 500 mesh, foram lavados com água corrente até que o hipoclorito fosse completamente lavado. A suspensão de ovos foi recolhida e passada por um processo de centrifugação em duas etapas. Na primeira por cinco minutos na velocidade de 3.500 rpm, e ao final, descartando o sobrenadante e na segunda por um minuto com velocidade de 1.500 rpm com solução de sacarose 50 %. Após a segunda centrifugação o sobrenadante foi passado na peneira 500 mesh e lavados em água corrente retirando toda solução de sacarose. Após a recuperação do material na peneira, foi utilizada uma placa de contagem de Peter com o auxílio de um microscópio óptico, os ovos presentes foram contados e posteriormente inoculados nas plantas e realizado o teste de eclosão, onde por quatro semanas foram contados os juvenis eclodidos dos ovos para a correção do fator de reprodução (FRc).

### **3.4 Avaliação do inóculo de *Meloidogyne javanica***

Com o objetivo de avaliar a capacidade reprodutiva de *M. javanica* e os efeitos de níveis crescentes de inóculo do nematoide sobre o desenvolvimento vegetativo do feijão-caupi para futuras avaliações de resistência, foram utilizados três genótipos, IT93K-503-1 considerado resistente (Huynh *et al.*, 2015) e dois genótipos AM36-1 e MNC-06-909-68 em que foi observada a multiplicação do nematoide.

Os experimentos foram realizados em casa de vegetação, com tamanho e conteúdo dos vasos e adubações como descrito no tópico 3.1 com temperatura média de 22,9 °C com temperatura máxima e mínima de 14,8 e 36,5°C respectivamente. Após a abertura do trifólio aos 17 DAP foram inoculadas as seguintes populações iniciais (PI) de cada nematoide: 0 (zero); 5.000; 10.000; 15.000; 20.000 ovos por planta. O delineamento foi inteiramente casualizado com 15 tratamentos em esquema fatorial 5x3 (inóculo do nematoide x genótipos) com 6 repetições. Aos 60 dias após a inoculação (DAI) foram avaliados: o diâmetro do caule, em centímetros (DC), altura das plantas em centímetros (ALT), peso da parte aérea em gramas (PPA), peso das raízes em gramas (PR) população final de ovos e J2 (PF) e o fator de reprodução (FR). O diâmetro foi medido por paquímetro digital e para medição da altura das plantas foi utilizada trena. O peso da parte aérea foi mensurado utilizando balança eletrônica, marca Even, modelo BL-1200AS-BI. Para determinação da população final, as raízes foram processadas pelo método de extração proposto por Coolen & D'Herde (1972) como mencionado no tópico 3.3. O FR foi calculado pela razão entre a PF/ PI, no qual os genótipos que apresentam  $FR < 1,0$  são considerados resistentes, e os que apresentam  $FR > 1,0$  são considerados suscetíveis e  $FR = 0$  são considerados imunes (Oostenbrink, 1966).

### 3.5 Avaliação das reações dos genótipos de feijão-caupi a *M. incognita* e *M. javanica*

Foram avaliados 24 genótipos de feijão-caupi, sendo 18 genótipos de feijão-caupi cedidos pela Embrapa Meio-Norte, duas cultivares nigerianas consideradas resistentes (IT84S-2049 e IT93K-503-1), quatro isolinhas desenvolvidas pela Universidade da Califórnia – Riverside que se diferem pela ausência ou presença de genes de resistência e o tomate cv. Santa Clara, que não foi considerado como tratamento, mas apenas para confirmação da viabilidade do inóculo. As cultivares nigerianas e as isolinhas foram utilizadas como controle resistente e suscetível nos ensaios (Tabela 1).

**Tabela 1.** Genótipos de feijão-caupi avaliados e a reação para *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*.

Genótipos	Genes de resistência	Reação		Referências
		<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	
Cordeiro 2	-	-	-	
Arcoverde 5	-	-	-	
Juazeiro 2	-	-	-	
São benedito 6	-	-	-	
Bico de ouro 1-5-26	-	-	-	
Pingo de ouro 1-5-26	-	-	-	
Tauá 9	-	-	-	
Casa amarela 2	-	-	-	
MLB57	-	-	-	
Am60-1	-	-	-	
Am36-1	-	-	-	
Am14-1	-	-	-	
MNC-06-909-68	-	-	-	
MNC-06-909-14	-	-	-	
MNC-06-958-1	-	-	-	
MNC-04-769F-55	-	-	-	
MNC-04-792F-158	-	-	-	
MNC-04-907-35	-	-	-	
IT93K-503-1	<i>QRk-vu11.1</i>	resistente	resistente	Huynh <i>et al.</i> , 2015
IT84S-2049	<i>RkRk/Rk<sup>2</sup>Rk<sup>2</sup>/QRk-vu9.1</i>	resistente	resistente	Roberts <i>et al.</i> , 1996; Santos <i>et al.</i> , 2018
NIL-2-genes	<i>RkRk/QRk-vu9.1</i>	resistente	resistente	Ndeve <i>et al.</i> , 2018
NIL-3-genes	<i>RkRk/QRk-vu9.1/ cb3</i>	resistente	resistente	Ndeve <i>et al.</i> , 2018
NIL-CB3-egg	<i>cb3</i>	resistente	suscetível	Roberts <i>et al.</i> , 1996
CB46-Null	-	suscetível	suscetível	Ndeve <i>et al.</i> , 2018
Tomate	-	suscetível	suscetível	

Os ensaios foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, com 24 tratamentos x 6 repetições x 2 repetições no tempo (Exp. 1 e 2) Foi realizado um terceiro experimento apenas com os materiais que obtiveram FRs menor ou igual a 1, com a finalidade de confirmar a resistência. A inoculação foi realizada 17 DAP com 15.000 ovos de *M. incognita* e *M. javanica* e eventuais juvenis de segundo estágio (J2), com auxílio de uma pipeta de 10 ml em quatro orifícios distantes 2 cm do caule. Para cada experimento, foi realizado o teste de eclosão para avaliar o percentual de J2 que eclodiram em 1 ml para assegurar a viabilidade do inóculo e corrigir o fator de reprodução (FRc). As temperaturas máximas, mínimas e médias na casa-de-vegetação durante a realização dos experimentos podem ser visualizadas na Tabela 2.

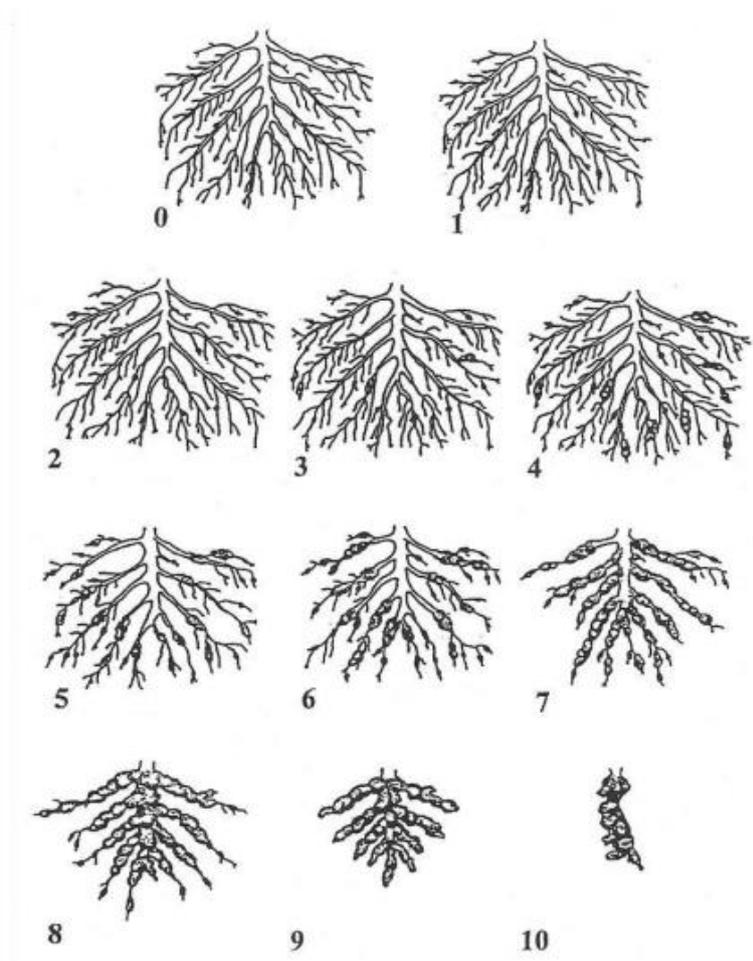
**Tabela 2.** Temperaturas (°C) na casa de vegetação no período de realização dos experimentos na Estação Experimental de Biologia, Brasília, Distrito Federal, 2020.

<b>Experimento<sup>1</sup></b>	<b>Máxima</b>	<b>Mínima</b>	<b>Média</b>
Experimento 1 <i>Mi</i>	34,9	15,7	23,42
Experimento 2 <i>Mi</i>	31,3	15,4	21,95
Experimento 1 <i>Mj</i>	33,4	15,7	22,34
Experimento 2 <i>Mj</i>	36,5	14,8	22,85

<sup>1</sup>*Mi* = *M. incognita*; *Mj* = *M. javanica*

A avaliação foi realizada 60 DAI das seguintes variáveis: Índice de galhas (IG), massa fresca da raiz em gramas (MFR), total de ovos e J2 (PF), total de ovos e J2/grama de raiz (NGR) e o fator de reprodução (FR). O IG corresponde a quantidade de galhas em cada raiz e foi avaliado conforme a escala desenvolvida por Bridge e Page (1980) (Figura 1).

A pesagem das raízes para determinação da MFR foi realizada em balança eletrônica, marca Even, modelo BL-1200AS-BI. Após pesadas, as raízes foram processadas pelo método de extração proposto por Coolen & D'Herde (1972) como mencionado no tópico 3.3. Para conservação das amostras, foi utilizada solução de Golden X (Hooper, 1986). A determinação da PF para cada repetição foi realizada a partir de contagem utilizando lâmina de Peter em microscópio óptico. O FRc foi calculado pela razão entre a PF/população de juvenis, mensurados pelo teste de eclosão. A classificação quanto a resistência foi apresentada no item 3.4. A quantidade de ovos e J2/grama de raiz foi calculada pela razão entre o total de ovos e J2/MFR.



**Figura 1.** Escala de notas de Bridge & Page (1980) dos níveis de infestação de nematoide-das-galhas em raízes. onde: 0 = sem galhas no sistema radicular; 1 = muito poucas, galhas pequenas nas raízes secundárias e de difícil visualização; 2 = muito poucas e pequenas galhas nas raízes secundárias podem ser vistas; 3 = galhas podem ser facilmente vistas na maioria das raízes, exceto na raiz principal, o tamanho varia de muito pequeno a pequeno; 4 = sistema radicular está obviamente com galhas, algumas galhas grandes podem ser vistas nas raízes secundárias e muito poucas saliências podem ser vistas na raiz principal; 5 = geralmente grandes galhas podem ser vistas no sistema radicular e a raiz principal é ligeiramente galhada com galhas de tamanhos diferentes; 6 = galhas grandes, raiz principal fortemente galhada; 7 = galhas grandes e galhas grandes coalescidas na raiz principal e secundárias, respectivamente; 8 = todas as raízes principais com galhas, 9 = todas as raízes severamente atacadas, planta morrendo, 10 = todas as raízes gravemente atacadas, nenhum sistema radicular presente, planta geralmente morta.

### 3.6 Avaliação do ciclo de vida de *Meloidogyne incognita* em raiz de feijão-caupi carregando o gene NIL-CB3-egg

Buscando avaliar a penetração de *M. incognita* em raiz da isolinha NIL-CB3-egg portadora de gene que permite a multiplicação do nematoide, porém sem a formação de galhas, foi utilizada o genótipo MNC-04-792F-158 como padrão de suscetibilidade. Para a avaliação da penetração, migração e formação de galhas, o experimento foi conduzido em casa de vegetação, procedeu-se a semeadura em copos plásticos com capacidade para 550 ml, contendo

areia e substrato autoclavados na proporção 1:1. Foram mantidas 30 plantas de cada genótipo, uma por copo. Aos 17 DAP cada planta foi inoculada com 5.000 juvenis. As avaliações foram realizadas a cada 72 h, até o 24 DAI. Para coloração dos nematoides no interior das raízes foi aplicada a metodologia de Byrd *et al.* (1983) pela qual as raízes foram lavadas e mergulhadas em 200 ml de solução aquosa de NaOCl a 5,25% por quatro minutos e, após lavadas foram mantidas em béquer com água por 15 minutos para retirar o excesso de NaOCl. Em seguida, para colorir as raízes, estas foram cortadas e transferidas para um béquer com uma solução preparada com 40 ml de água destilada e 2 ml de solução estoque de fucsina (1,25 g de fucsina ácida, diluída em 125 ml de ácido acético glacial e 375 ml de água destilada). A solução contendo as raízes foi aquecida em micro-ondas por 45 segundos. Após resfriamento em temperatura ambiente, as raízes foram descoradas com água fria e posteriormente observadas ao microscópio estereoscópico. Partes das raízes que mostraram a presença do nematoide foram montadas em lâminas com uma gota de glicerol e levadas ao microscópio de luz, onde foram analisadas.

### **3.7 Análise estatística**

Para o ensaio de concentração de inóculo, os resultados foram submetidos à análise de variância e regressão com auxílio do programa SISVAR 5.6 (Ferreira, 2019). Os dados de peso das raízes (PR), população final (PF) e fator de reprodução (FR) foram transformados para  $\sqrt{x+0,5}$  e todos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e aplicado o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade para análise comparativa das médias.

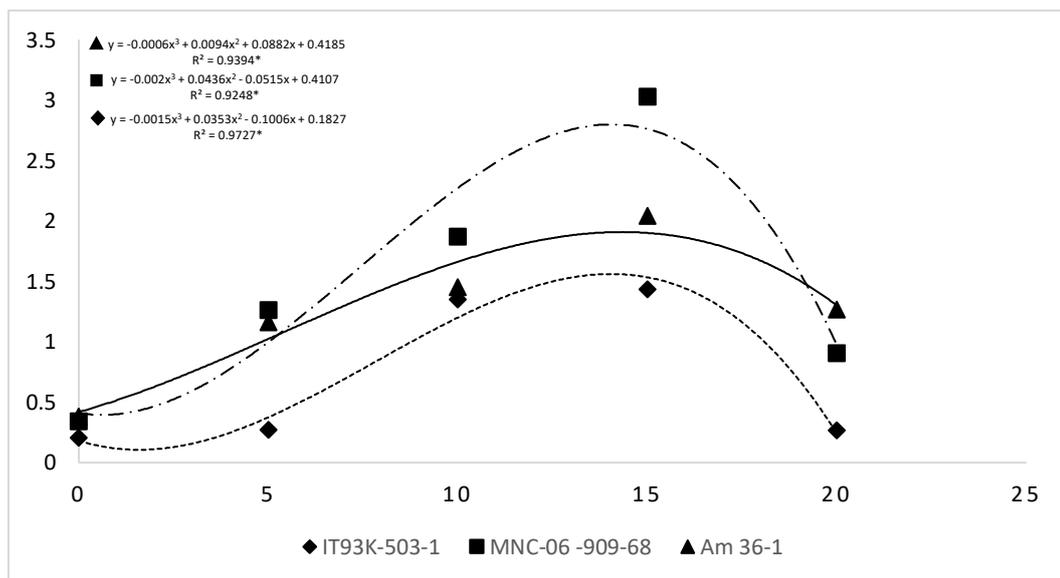
Os dados de avaliação de resistência foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e para normalização dos dados originais de massa fresca da raiz (MFR), nematoides por grama de raiz (NGR), População final de nematoides (PF), e o Fator de reprodução (FR) foi utilizado a transformação para  $\sqrt{x+0,5}$ . Dados transformados foram submetidos à análise de variância e aplicado o teste Scott-Knott a 5% de probabilidade para análise comparativa das médias.

## 4. RESULTADOS

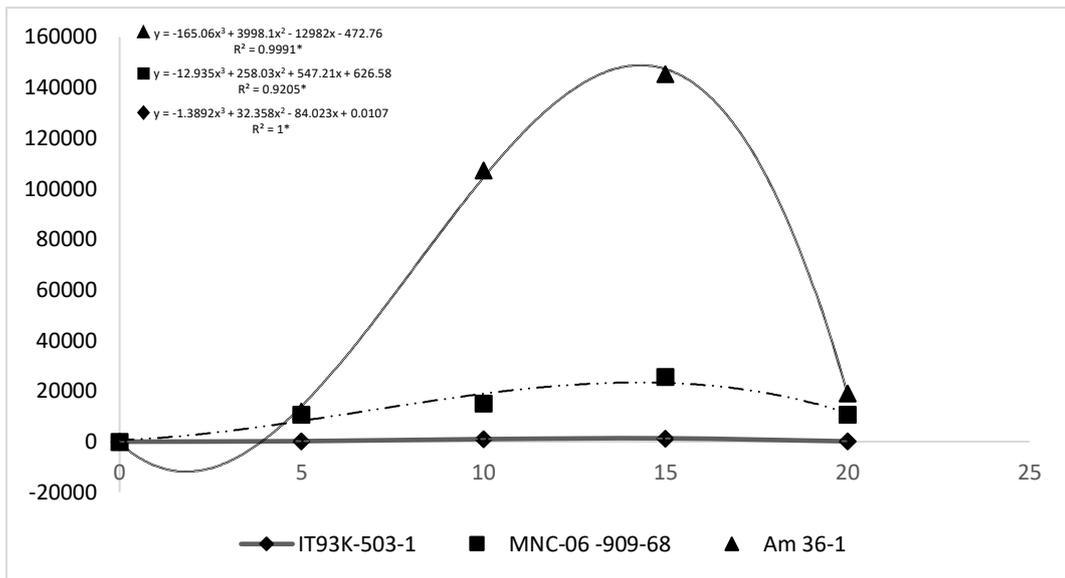
### 4.1 Avaliação do inóculo de *Meloidogyne javanica*

Não foram observadas diferenças estatísticas ( $P>0,05$ ) entre as concentrações de inóculo para as variáveis ALT, DC e PPA (dados não apresentados) e não houve interação entre as variáveis. Foi significativo o efeito da densidade crescente de inóculo de *M. javanica* no desenvolvimento das raízes (PR) dos genótipos de feijão-caupi. Foi observado aumento no peso das raízes até a concentração de  $14 \times 10^3$  e depois foi observado a redução de peso (Figura 2). O genótipo IT93K-503-1, teve os menores valores nas concentrações de inóculo de  $5 \times 10^3$ ,  $15 \times 10^3$ ,  $20 \times 10^3$  ovos/juvenis e os maiores valores foram encontrados no genótipo MNC-06-909-68.

Quanto a população final (PF), o genótipo IT93K-503-1 teve valores inferiores aos demais para todas as concentrações não havendo diferença entre as concentrações iniciais de inóculo, enquanto o genótipo Am36-1 teve as maiores populações encontradas entre os três genótipos. Para Am36-1 e MNC-06-909-68 houve aumento da população até  $14 \times 10^3$  e então foi observada a diminuição da população a partir desse ponto (Figura 3).



**Figura 2.** Peso das raízes (PR) dos genótipos de feijão-caupi inoculados com *Meloidogyne javanica*, com populações iniciais de 0; 5.000; 10.000; 15.000 ou 20.000 ovos e juvenis /planta. \*Significativo a 5% de probabilidade.



**Figura 3.** População final (PF) dos genótipos de feijão-caupi inoculados com *Meloidogyne javanica*, com populações iniciais de 0; 5.000; 10.000; 15.000 ou 20.000 ovos e juvenis/planta. \*Significativo a 5% de probabilidade.

Para a variável FR, não houve diferença estatística entre as concentrações de inóculo, exceto a 0 para o genótipo IT93K-503-1. Os maiores FR para Am36-1 e MNC-06-909-68 foram os das concentrações de inóculo de  $5 \times 10^3$ ,  $10 \times 10^3$  e  $15 \times 10^3$  (Tabela 3). Para o genótipo Am36-1 o maior FR foi observado na concentração  $14 \times 10^3$ , para MNC-06-909-68 na concentração  $8 \times 10^3$ . Dentro de cada concentração de inóculo houve diferença estatística dos três genótipos nas concentrações  $10 \times 10^3$  e  $15 \times 10^3$  (Figura 4).

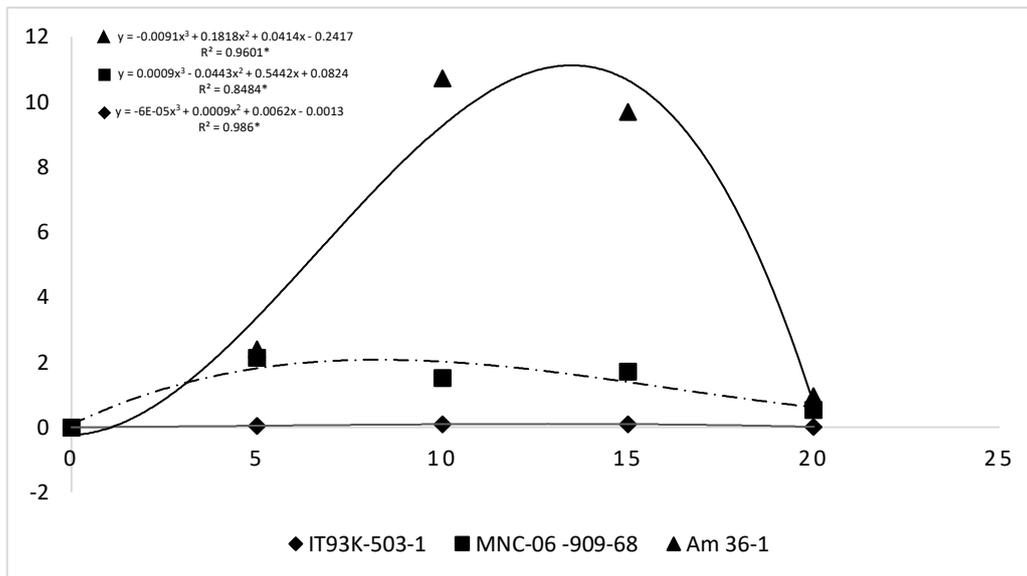
**Tabela 3.** Fator de reprodução (FR) em diferentes genótipos de feijão-caupi para diferentes concentrações de inóculo de *Meloidogyne javanica*, Brasília, Distrito Federal, 2020.

Genótipos	<sup>1</sup> Concentração de inóculo				
	0	$5 \times 10^3$	$10 \times 10^3$	$15 \times 10^3$	$20 \times 10^3$
IT93K-503-1	0,00 Ba	0,04 Ab	0,10 Ac	0,09 Ac	0,01 Aa
MNC-06-909-68	0,00 Ba	2,12 Aa	1,52 Ab	1,71 Ab	0,53 Ba
Am36-1	0,00 Da	2,41 Ba	10,72 Aa	9,69 Aa	0,96 Ca

Médias seguidas com letras maiúsculas nas linhas, não diferem entre si, com relação a concentração de inóculo para cada genótipo pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

Médias seguidas com letras minúsculas nas colunas, não se diferem entre si, com relação aos genótipos para cada concentração de inóculo. pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>1</sup>Concentração de inóculo medida em ovos/planta.



**Figura 4.** Fator de Reprodução (FR) dos genótipos de feijão-caupi inoculados com *Meloidogyne javanica*, com populações iniciais de 0; 5.000; 10.000; 15.000 ou 20.000 ovos e juvenis/planta. \* Significativo a 5% de probabilidade.

#### 4.2 Seleção para resistência a *Meloidogyne javanica*

Apenas o genótipo controle IT93K-503-1 foi considerado resistente no primeiro experimento (Exp. 1) com  $FR < 1$ , sendo agrupados com os outros controles NIL-3-genes, NIL-2-genes, IT84S-2049, porém eles apresentaram  $FR > 1$  (Tabela 4). O genótipo Am36-1 foi a que apresentou o maior valor de FR. No experimento 2 (Exp.2) os controles de resistência tiveram valores de  $FR < 1$ . Os outros genótipos apresentaram valores entre  $2,05 \leq FR \leq 11,98$ . Os genótipos Am14-1, MNC-06-909-68, Bico de ouro 1-5-26, CB46-Null, MNC-06-909-14, S. Benedito 6 e NIL-CB3-egg compõe o segundo grupo estatístico com FRs variando de 2,05 a 3,54. O genótipo Arcoverde 5 apresentou maior média de FR (Tabela 4).

No Exp. 1 a PF formou cinco grupos estatísticos que variou entre  $2.700 \leq PF \leq 244.766$ , sendo o grupo com menor PF composto pelo genótipo Juazeiro 2 e os controles de resistência e o maior grupo com o genótipo Am36-1. No Exp. 2 a PF teve um intervalo de  $2.222 \leq PF \leq 280.280$ , sendo NIL-CB3-egg o genótipo com a maior média. Os controles apresentaram as menores médias de PF nos dois experimentos (Tabela 4).

O peso das raízes variou entre  $0,44 \leq MFR \leq 8,12$  no Exp. 1 e  $0,37 \leq MFR \leq 6,61$  no Exp. 2. Em geral as raízes foram mais pesadas no Exp. 1. Para o parâmetro NGR as médias foram de  $3813,39 \leq NGR \leq 104783,45$  e  $6000,63 \leq NGR \leq 44.131,13$  no Exp. 1 e 2 respectivamente. Os controles de NIL-2 genes e NIL-3 genes apresentaram valores de média

maiores no Exp. 1. Os genótipos Juazeiro 2, MNC-04-792F-158 e Pingo de ouro 1-5-26 apesar de apresentarem valores de FR > 1, foram observados menores valores de NGR (Tabela 4).

As médias do IG (Tabela 4) no Exp.1 variaram de 2 a 6,83 no Exp. 1 e no Exp. 2 de 2 a 7 sendo os materiais controles utilizados, considerados resistentes tiveram o IG < 3, enquanto os que eram considerados suscetíveis apresentaram IG > 4 (Figura 2)

**Tabela 4.** Reação de acessos de feijão-caupi inoculados com 15.000 ovos e eventuais juvenis de *Meloidogyne javanica*, baseada na população final (PF), massa fresca da raiz (MFR), nematoides por grama de raiz (NGR), fator de reprodução (FR), fator de reprodução corrigido (FRc) e índice de galhas (IG), Brasília, Distrito Federal, 2020.

Tratamento <sup>1</sup>	PF <sup>2</sup>		MFR (g)		NGR		FR		FRc <sup>3</sup>		IG		Reação <sup>4</sup>	
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2
IT93K-503-1	2.700 a	2.222 a	1,33 a	0,37 a	3.813,39 a	6.939,37 a	0,18 a	0,15 a	0,26 a	0,22 a	2,00 a	2,00 a	R	R
NIL-3-genes	13.990 a	5.898 a	0,44 a	0,74 a	50.667,11 b	6.000,63 a	0,93 a	0,39 a	1,33 a	0,58 a	2,40 a	2,00 a	S	R
NIL-2-genes	14.253 a	8.322 a	0,47 a	0,53 a	42.498,75 b	14.599,38 a	0,95 a	0,55 a	1,35 a	0,81 a	2,20 a	2,00 a	S	R
IT84S-2049	16.508 a	7.947 a	1,87 b	0,85 a	6.976,40 a	10.528,33 a	1,10 a	0,53 a	1,57 a	0,78 a	2,00 a	2,00 a	S	R
Juazeiro 2	28.051 a	21.163 b	2,50 a	2,11 a	16.727,31 a	7.265,53 a	1,87 b	1,41 b	2,67 b	2,06 b	3,50 b	5,17 c	S	S
Am14-1	30.648 b	52.968 c	3,56 b	6,28 c	17.350,84 a	9.395,06 a	2,04 b	3,53 b	2,91 b	5,17 c	3,67 b	6,83 d	S	S
MNC-06-895-1	34.828 b	23.045 b	0,82 a	1,57 a	51.242,92 b	14.330,91 a	2,32 b	1,54 b	3,31 b	2,25 b	3,50 b	2,80 a	S	S
MNC-06 -909-68	41.368 b	49.345 c	3,28 b	3,39 b	12.324,43 a	27.440,28 b	2,62 b	3,29 b	3,73 b	4,81 c	3,67 b	4,33 c	S	S
MNC-04-792F-158	42.326 b	31.013 b	3,81 b	3,18 b	14.486,22 a	14.656,82 a	2,82 b	2,07 b	4,02 b	3,03 b	4,40 c	7,17 d	S	S
Bico de ouro 1-5-24	42.440 b	24.224 b	1,50 a	0,96 a	34.449,03 b	21.200,70 a	2,83 b	1,61 b	4,03 b	2,05 b	3,60 b	4,67 c	S	S
CB46 – Null	47.309 b	20.971 b	0,76 a	1,98 a	70.182,85 c	16.091,42 b	3,15 b	1,40 b	4,50 b	2,36 b	4,00 c	4,17 c	S	S
MNC-06 -909-14	48.834 b	36.246 c	2,66 a	2,04 a	25.227,44 a	18.456,09 b	3,26 b	2,42 c	4,64 b	3,54 b	4,67 c	2,60 a	S	S
S. Benedito 6	52.373 b	42.458 c	3,72 b	1,62 a	16.693,76 a	25.416,76 b	3,49 b	2,83 c	4,98 b	4,14 c	4,20 c	4,60 c	S	S
MNC-04 -769F-55	63.688 c	74.377 d	4,52 b	6,61 c	13.911,24 a	12.930,13 a	4,25 b	4,96 c	6,05 b	7,26 c	4,60 c	7,00 d	S	S
Casa amarela 2	72.959 c	71.665 d	4,75 b	3,91 b	14.018,71 a	18.884,26 b	4,86 c	4,78 c	6,94 c	6,99 c	4,00 b	4,00 b	S	S
Tauá 9	79.688 c	116.438 d	6,31 b	6,35 c	16.987,20 a	19.150,27 b	5,28 c	7,76 c	7,57 c	11,36 d	5,50 d	6,50 d	S	S
MLB-57	79.207 c	45.939 c	1,98 a	3,34 a	43.770,49 b	13.790,29 a	5,31 c	3,06 c	7,53 c	4,48 c	4,60 c	4,67 c	S	S
MNC-04-907-35	85.604 c	43.737 c	3,97 b	2,38 b	21.629,70 a	31.161,21 b	5,71 c	2,92 c	8,14 c	4,27 c	5,50 d	4,67 c	S	S
Am 60-1	92.778 c	57.195 c	4,99 b	2,02 a	22.538,57 a	44.131,13 b	6,19 c	3,81 c	8,82 c	5,58 c	4,60 c	4,00 b	S	S
Cordeiro 2	100.065 c	69.831 c	3,52 b	3,78 b	29.597,06 b	16.736,37 a	6,67 c	4,66 c	9,51 c	6,81 c	4,30 c	5,83 d	S	S
NIL-CB3-egg	118.942 c	280.280 e	1,60 a	1,11 a	104.783,45 c	27.696,07 b	7,93 c	1,87 c	11, 3 c	2,73 b	6,50 e	4,40 c	S	S
Arloverde 5	136.117 d	122.745 d	3,73 b	5,64 c	45.947,85 b	24.764,95 b	9,07 d	8,18 d	12,94 c	11,98 d	4,83 c	6,60 d	S	S
Pingo de ouro 1-5-26	141.224 d	73.289 d	6,20 b	5,25 c	22.563,81 a	14.398,92 a	9,41 d	4,89 d	13,42 c	7,15 c	5,50 d	5,33 c	S	S
Am 36-1	244.766 e	83.937 d	8,12 b	6,16 c	34.378,66 b	22.863,81 b	16,32 d	5,60 d	23,27 d	8,19 d	6,83 e	5,20 c	S	S
Tomate	80.461	33798	4,30	1,04	17.855,10	33.762	5,36	2,25	7,65	3,30	5,75	6,00	S	S
CV (%)	33,44	32,72	30,02	29,74	41,61	34,1	28,84	26,47	30,13	28,02	22,11	19,5		

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>2</sup>Transformações realizadas: População final, massa fresca da raiz, nematoide por grama de raiz e fator de reprodução foram transformados para  $\sqrt{x+0,5}$

<sup>3</sup>O para o cálculo do fator de reprodução corrigido (FRc) foi utilizada a população inicial de 10.520 para o Exp. 1 e 10.250 para o Exp. 2.

<sup>4</sup>Classificação proposta por Oostenbrink (1966), onde S = suscetível; R = resistente.

O experimento 1 foi realizado do dia 03/12/2019 a 17/02/2020; O experimento 2 foi realizado do dia 28/09/2020 a 10/12/2020.



**Figura 5.** Exemplos de notas atribuídas de índice de galhas (IG) às raízes de feijão-caupi após inoculação com *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*, segundo Bridge e Page (1980). A: nota 1; B: nota 2; C: nota 3; D: nota 4; E: nota 5; F: nota 6; G: nota 7; H: nota 8; I: nota 9

### 4.3 Seleção para resistência a *Meloidogyne incognita*

Nos Exp. 1 e 2 os genótipos MNC-06-895-1, MLB-57, MNC-06 -901-14, MNC-06-909-68, MNC-04-907-35 e Am60-1 foram consideradas resistentes por apresentar valor de FR < 1, os controles de resistência também tiveram reação de resistência. Os demais materiais apresentaram médias que variaram de  $2,26 \leq FR \leq 41,32$  no Exp.1 e de  $2,83 \leq FR \leq 15,13$ . Em geral os valores de FR foram maiores no Exp. 1. Os genótipos Am14-1, Bico de ouro 1-5-26, Cordeiro 2, Pingo de ouro 1-5-26, Arloverde 5, S. Benedito 6, Am36-1, Tauá 9 e MNC-04-792F-158 tiveram FRs maiores que o observado no padrão de suscetibilidade CB46-Null.

A PF formou cinco grupos estatísticos no Exp. 1, as médias variando de  $1.427 \leq PF \leq 541.234$ , no Exp. 2 ficou entre  $266 \leq PF \leq 152.818$ . A média de peso das raízes foi de  $0,99 \leq MFR \leq 28,13$  os genótipos considerados resistentes tiveram as menores médias de MFR exceto Am60-1 e MLB-57 no Exp. 1. No Exp. 2 o peso das raízes variou entre  $0,83 \leq MFR \leq 12,35$  com dois grupos estatísticos, o primeiro variando de 0,83 a 3,49 e o segundo de 4,39 a 12,35.

O NGR teve variação de  $552,87 \leq NGR \leq 31.789,09$  e formando quatro grupos estatísticos, com as médias mais altas apresentadas por MNC-04 -769F-55, S. Benedito 6 e MNC-04-792F-158. O NGR teve variação de  $181,32 \leq NGR \leq 44.810,85$  obtendo quatro grupos estatísticos, com as médias mais altas apresentadas por NIL-CB3-egg e CB46-Null. Os índices de galhas tiveram médias de notas de  $1,33 \leq IG \leq 7,80$  no Exp. 1 (Figura 2). Os genótipos considerados resistentes juntamente com os controles resistentes tiveram  $IG \leq 2,33$ , e a isolinha suscetível CB46-Null teve  $IG = 7$ . As médias das notas dadas ao número de galhas no Exp. 2 tiveram o intervalo de  $1,00 \leq IG \leq 6,33$  (Figura 2), sendo o grupo com as menores notas foram os genótipos considerados resistentes com  $IG \leq 1,67$ . O maior IG foi observado no genótipo Tauá 9.

**Tabela 5.** Reação de acessos de feijão-caupi inoculado com 15.000 ovos e eventuais juvenis de *Meloidogyne incognita*, baseada na população final (PF), massa fresca da raiz (MFR), nematoides por grama de raiz (NGR), fator de reprodução (FR), fator de reprodução corrigido (FRc) e índice de galhas (IG), Brasília, Distrito Federal, 2020.

Tratamento	PF		MFR (g)		NGR		FR		FRc		IG		Reação <sup>4</sup>	
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2
IT93K-503-1	1.427 a	1.296 a	1,52 a	2,30 a	897,29 a	682,63 a	0,10 a	0,09 a	0,11 a	0,13 a	1,40 a	1,20 a	R	R
IT84S-2049	2.814 a	538 a	2,54 a	1,45 a	897,08 a	496,62 a	0,19 a	0,04 a	0,21 a	0,05 a	1,33 a	1,67 a	R	R
NIL-2 genes	3.024 a	446 a	0,99 a	0,83 a	2.656,51 a	542,49 a	0,20 a	0,03 a	0,23 a	0,04 a	1,40 a	1,00 a	R	R
MNC-06-895-1	3.208 a	818 a	1,24 a	1,05 a	3.024,99 a	778,40 a	0,21 a	0,05 a	0,24 a	0,08 a	1,33 a	1,25 a	R	R
MLB-57	4.184 a	9.203 b	6,39 b	6,51 b	552,87 a	2.246,78 a	0,28 a	0,61 a	0,32 a	0,91 a	1,40 a	1,67 a	R	R
MNC-06 -901-14	5.529 a	1.807 a	2,43 a	1,66 a	2.446,96 a	942,37 a	0,37 a	0,12 a	0,42 a	0,18 a	2,00 a	1,40 a	R	R
MNC-06 -909-68	10.225 a	2.615 a	3,39 a	6,24 b	2.953,81 a	413,33 a	0,68 a	0,17 a	0,78 a	0,26 a	2,33 b	1,40 a	R	R
MNC-04-907-35	12.346 a	9.513 b	3,51 a	4,58 b	3.994,92 a	3.021,77 a	0,82 a	0,63 a	0,94 a	0,94 a	1,60 a	2,00 b	R	R
Am60-1	12.613 a	6.399 b	6,34 b	3,89 a	1.791,67 a	1.964,02 a	0,84 a	0,43 a	0,96 a	0,63 a	1,66 a	1,83 b	R	R
NIL-3 genes	12.742 a	266 a	1,46 a	1,50 a	8.727,40 b	181,32 a	0,85 a	0,02 a	0,97 a	0,03 a	1,50 a	1,00 a	R	R
NIL-CB3-egg	29.570 a	43.210 c	1,61 a	1,24 a	24.072,94 c	42.786,93 d	1,97 a	2,88 b	2,26 a	4,28 b	2,80 b	3,00 c	S	S
Casa amarela 2	55.288 b	37.991 c	8,48 b	6,89 b	7.365,58 b	6.421,90 b	3,69 b	2,53 b	4,22 b	3,76 b	4,00 c	4,00 e	S	S
Juazeiro 2	69.605 b	28.581 c	7,26 b	9,05 b	11.360,96 b	3.059,94 a	4,64 b	1,91 b	5,31 b	2,83 b	4,20 c	2,00 b	S	S
CB46-Null	71.720 b	126.607 e	1,92 a	3,49 a	57.398,96 e	44.810,85 d	4,78 b	8,44 d	5,47 b	12,54 d	7,00 d	5,80 e	S	S
Am14-1	77.148 b	42.102 c	8,94 b	7,64 b	8.381,28 b	5.383,42 b	5,14 b	2,81 b	5,89 b	4,17 b	3,50 b	3,50 c	S	S
Bico de ouro 1-5-26	89.029 b	44.595 c	9,61 b	6,89 b	10.045,33 b	8.221,98 b	5,94 b	2,97 b	6,80 b	4,42 b	4,83 c	3,60 c	S	S
Cordeiro 2	92.936 b	31.388 c	6,79 b	5,27 b	17.048,55 c	8.425,93 b	6,20 b	2,09 b	7,09 b	3,11 b	4,83 c	3,17 c	S	S
Pingo de ouro 1-5-26	119.669 b	85.102 d	8,58 b	5,12 b	13.119,63 c	21.557,09 c	7,98 b	5,67 c	9,14 b	8,43 c	5,00 c	5,00 d	S	S
MNC-04 -769F-55	170.917 c	30.203 c	6,42 b	4,39 b	29.611,09 d	8.592,62 b	11,39 c	2,01 b	13,05 c	2,99 b	6,00 d	2,00 b	S	S
Arloverde 5	189.956 c	69.688 d	9,40 b	7,54 b	22.219,04 c	10.843,62 b	12,66 c	4,65 c	14,50 c	6,90 b	6,83 d	5,17 e	S	S
São benedito 6	246.012 d	43.921 c	7,67 b	7,99 b	31.789,09 d	5.547,10 b	16,40 d	2,93 b	18,78 d	4,35 b	7,00 d	3,00 c	S	S
Am36-1	318.202 d	142.697 e	16,06 c	12,35 b	22.209,58 c	25.003,69 c	21,21 d	9,51 d	24,29 d	14,13 d	6,83 d	6,20 e	S	S
Tauá 9	489.428 e	152.818 e	28,13 d	8,28 b	18.819,38 c	25.975,27 c	32,63 e	10,19 d	37,36 e	15,13 d	7,80 d	6,33 f	S	S
MNC-04-792F-158	541.234 e	87.563 d	19,69 c	8,39 b	29.215,33 d	11.903,34 b	36,08 e	5,84 c	41,32 e	8,67 c	7,20 d	5,83 e	S	S
Tomate	207.549	65.416,8	3,51	1,835	69.141,97	37.807	13,85	4,36	15,83	6,48	15,84	6,5	S	S
CV (%)	29,24	29,59	25,97	28,44	28,85	40,11	24,85	22,76	25,23	24,29	22,10	13,61		

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>2</sup>Transformações realizadas: População final, massa fresca da raiz, nematoide por grama de raiz e fator de reprodução foram transformados para  $\sqrt{x+0,5}$ .

<sup>3</sup>Para o cálculo fator de reprodução corrigido (FRc) foi utilizada a população inicial de 13.100 para o Exp. 1 e 10.100 para o Exp. 2.

<sup>4</sup>Classificação proposta por Oostenbrink (1966), onde S = suscetível; R = resistente.

O experimento 1 foi realizado do dia 21/09/2019 a 11/12/2019; O experimento 2 foi realizado do dia 06/01/2020 a 26/03/2020.

Na terceira repetição com os materiais que tiveram  $FR < 1$  nos experimentos 1 e 2 com *M. incognita* (Tabela 6), todos os materiais, exceto MLB-57, tiveram  $FR < 1$  e baixos valores de IG confirmando mais uma vez a resistência de acordo com Oostenbrink (1966). A linhagem MNC06-895-1 teve o menor valor de multiplicação de nematoides ( $FR = 0,17$ ), seguido de MNC04-901-14 ( $FR=0,25$ ). O total de nematoides ficou entre  $2.386 \leq Pf \leq 15.728$  e o NGR variou de 997,63 a 1.767,71.

**Tabela 6.** Reação de acessos de feijão-caupi inoculado com 15.000 ovos e eventuais juvenis de *Meloidogyne incognita*, baseada na população final (PF), massa fresca da raiz em gramas (MFR), nematoides por grama de raiz (NGR), fator de reprodução (FR), fator de reprodução corrigido (FRc) e índice de galhas (IG), Brasília, Distrito Federal, 2020.

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

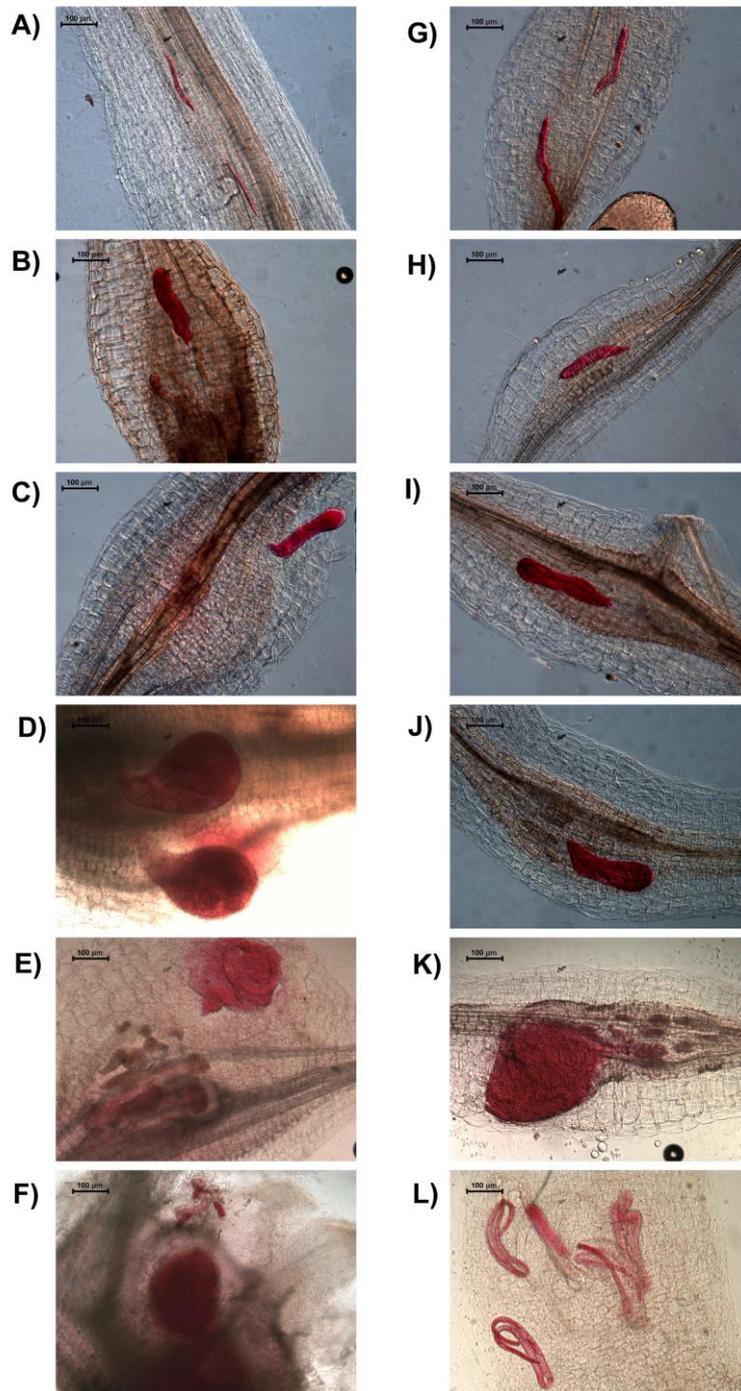
Tratamento <sup>1</sup>	PF <sup>2</sup>	MFR	NGR	FR	FRc <sup>3</sup>	IG	Reação <sup>4</sup>
MNC06-895-1	2.386 a	2,18 a	997,63 a	0,16 a	0,17 a	1,2 a	R
MNC04-901-14	3.412 a	3,00 a	1.207,94 a	0,23 a	0,25 a	1,4 a	R
MNC06-909-68	4.476 a	6,21 b	638,27 a	0,30 a	0,33 a	1 a	R
MNCO4-907-35	4.836 a	5,43 b	929,01 a	0,32 a	0,35 a	1,17 a	R
Am60-1	7.566 a	6,10 b	1.255,03 a	0,50 a	0,55 a	1,33 a	R
MLB 57	15.728 b	9,31 c	1.767,71 a	1,05 b	1,02 b	1,67 a	S
Tomate	102.130,8	2,67	41.116,70	6,8	7,42	7	S
CV	27,48	15,83	25,42	11,44	19,93	32,16	

<sup>2</sup>Transformações realizadas: População final, massa fresca da raiz, nematoide por grama de raiz e fator de reprodução foram transformados para  $\sqrt{x+0,5}$ .

<sup>4</sup>Classificação proposta por Oostenbrink (1966), onde S = suscetível; R = resistente. O experimento foi realizado do dia 26/08/2020 a 10/11/2020.

#### 4.5 Avaliação do ciclo de vida de *Meloidogyne incognita* em raiz de feijão-caupi

O Ciclo de vida de *M. incognita* em feijão-caupi foi de 24 dias (Figura 3). No estudo histopatológico das raízes coradas com fucsina ácida, observa-se que a 6 DAI, os juvenis penetraram as raízes e migraram rumo ao cilindro vascular (Figura 3A e G), acomodando parte posterior do corpo no córtex e região anterior no cilindro central da raiz. Aos 9 DAI (Figura 3B e H) foi possível perceber um ligeiro aumento no diâmetro do corpo do nematoide. Aos 12 DAI (Figura 3C e I) encontram-se juvenis no estágio J3/J4 estabelecidos no seu sítio de alimentação. Aos 15 DAI (Figura 3D e J) foram observados juvenis de quarto estágio e aos 18 DAI (Figura 3E e K), as fêmeas formadas. Na MNC-04-792F-158, foram observadas galhas com tamanhos maiores (Figura 3B-F) comparadas às galhas na NIL-CB3-egg (Figura 3H-L). Também foi observada uma quantidade considerável de machos na NIL-CB3-egg, não observada em MNC-04-792F-158 (Figura 3L). Massas de ovos foram observadas nos dois genótipos completando o ciclo.



**Figura 6.** Raízes de feijão-caupi inoculadas com *Meloidogyne incognita* coradas com fucsina ácida para avaliação da penetração e desenvolvimento do nematoide no genótipo que permite a multiplicação de nematoides com a formação de galhas MNC-04-792F (MNC) (A-F) e o genótipo que permite a multiplicação de nematoides mas não formar galhas NIL-CB3-egg (NIL) (G-L). A = MNC 6 DAI; B = MNC 9 DAI; C = MNC 12 DAI; D = MNC 18 DAI; E = 21 DAI; F = MNC 25 DAI.; G = NIL 6 DAI; H = NIL 9 DAI; I = NIL 12 DAI; J = NIL 18 DAI; K = NIL 21 DAI; L = NIL 24 DAI.

## 5. DISCUSSÃO

Diante da crescente intensificação e expansão da cultura do feijão-caupi no Brasil e da redução da produtividade causada pelo nematoide-das-galhas, o uso de resistência varietal desponta como uma alternativa economicamente viável e segura ao ambiente. Os resultados do presente estudo ampliam os conhecimentos sobre o patossistema feijão-caupi / nematoides, representando uma contribuição a programas de melhoramento do feijão-caupi que buscam viabilizar a oferta de cultivares com resistência a *M. incognita* e *M. javanica*, os principais nematoides que afetam essa cultura no Brasil (Dias, 2020). Embora nenhum dos 18 genótipos da coleção de acessos de feijão-caupi da Embrapa Meio-Norte tenha demonstrado resistência ao nematoide *M. javanica*, seis genótipos se comportaram como resistentes a *M. incognita*. Também como subsídio ao entendimento dos mecanismos envolvidos na resistência ao nematoide-das-galhas, observações histopatológicas mostraram que o gene *cb3*, além de levar à redução no número e tamanho das galhas inibe o desenvolvimento das fêmeas, favorecendo a formação de machos, sem importância ao parasitismo e à reprodução. O estudo confirmou também que o *M. incognita* completa seu ciclo de vida em 24 dias, sob condições de casa de vegetação.

O aumento de inóculo de *M. javanica* em geral contribuiu para aumento do peso das raízes, aumento este não resultante de aumento na abundância de raízes, mas devido à formação de galhas induzidas pelos nematoides e que é diretamente afetado pelo número de indivíduos inoculados, como foi demonstrado que níveis mais altos de inóculo de *M. javanica* acarretaram aumento do peso em raízes de pepino (Kankam & Adomako 2014). Siengchin *et al.* (2020) também relataram aumento de peso de raízes de feijão-mungo (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) quando a densidade de *M. incognita* aumentou no solo. Por outro lado, no presente estudo, inóculos iniciais maiores que  $14 \times 10^3$  ovos por planta levaram à redução no peso do sistema radicular, o que pode ter ocorrido pela grande densidade de nematoides ter causado danos severos ao sistema radicular quando as plantas ainda eram jovens, como ocorreu com raízes de pepino que tiveram o comprimento e peso das raízes reduzidos quanto inoculadas com maior densidade de inóculo (Kayani *et al.*, 2017).

Maiores populações iniciais a partir de  $8 \times 10^3$  resultaram em maiores valores de PF e FR de *M. javanica*, resultados coerentes, uma vez que esses patógenos apresentam alto potencial de reprodução (Taylor & Sasser, 1978; Khan & Haider, 1991). Belan *et al.* (2011) também registraram aumento na PF de *M. javanica* em tomateiros, à medida que os níveis de inóculo aumentaram. Mas é evidente pelos resultados que a taxa de multiplicação foi reduzida

com a população inicial a partir de  $14 \times 10^3$ , isso provavelmente pode ser devido aos danos no sistema radicular pelo parasitismo do nematoide, como também a alta população pode ocasionar competição por sítios de infecção nas raízes (Ogunfowora, 1997; Kankam & Adomako, 2014). Resultados semelhantes foram encontrados por Haseeb *et al.* (2002) em feijão-mungo que observaram que o FR diminuía com o aumento do inóculo inicial. Outro trabalho que buscou entender o potencial patogênico de *M. arenaria*, *M. incognita* e *M. javanica* em feijão-mungo, concluiu que a taxa de multiplicação dos nematoides teve redução considerável com o aumento da densidade de inóculo a partir de  $2 \times 10^3$  (Khan *et al.*, 2012).

Apesar da população inicial de  $5 \times 10^3$  ter mostrado bons resultados de ALT, DC, PPA, PF e FR diferenciando plantas resistentes das suscetíveis e mantendo a planta em bom estado para avaliação, os resultados de PF e FR mostram que a população inicial para melhor avaliação da reação de genótipos de feijão-caupi a *M. javanica* seja entre  $10 \times 10^3$  e  $15 \times 10^3$ , especificamente  $14 \times 10^3$ , pois foi possível diferenciar estatisticamente os genótipos em três grupos, principalmente os genótipos MNC-06-909-68 e Am36-1 que em outras concentrações permaneceram no mesmo grupo estatístico com valores muito próximos. Esse ensaio foi importante para a padronização e melhor inferir os genótipos resistentes de feijão-caupi a *M. javanica* podendo ser utilizados em futuros trabalhos de seleção de novas fontes de resistência sob as mesmas condições, pois condições diferentes como tamanho dos vasos, virulência do nematoide, temperatura, sanidade da planta pode ser alterados.

Nos ensaios de avaliação de resistência de *M. incognita* e *M. javanica*, não houve diferença considerável entre o FR e o FRc, pois a porcentagem de eclosão foi alta, porém é de suma importância a realização desse teste, pois se houvesse baixa taxa de eclosão, a reação de resistência seria estimada de forma incorreta, podendo julgar genótipos suscetíveis como resistentes.

Em relação à seleção de materiais resistentes a *M. javanica*, a viabilidade do inóculo foi comprovada pela agressividade identificada nos padrões de suscetibilidade CB46 – Null e tomate cv. ‘Santa Clara’ que obtiveram FRs entre 2,36 a 7,65 nos dois experimentos e genótipos que apresentaram valores de FR maiores que 10. Os genótipos CB46 – Null e tomate cv. ‘Santa Clara’ foram utilizados em outro experimento com feijão-caupi e a variação de FR ficou entre 2,32 a 2,86 (Dias, 2020) confirmando a suscetibilidade, o que era esperado pois o desenvolvimento desse genótipo foi realizada por meio do cruzamento de uma cultivar altamente suscetível (Chinese Red) e a CB46 resistente, como pai recorrente para obter o genótipo CB46 – Null (Santos *et al.*, 2018).

Somente a cultivar nigeriana IT93K-503-1 comportou-se como resistente à população de *M. javanica*. Tal resistência foi confirmada por Dias (2020) que obteve FR = 0,54 em 60 DAI. Outro trabalho apresentado por Adegbite *et al.* (2005) também observou que essa cultivar teve IG < 2 e FR < 1. Essa cultivar também vem sendo utilizada em estudos de mapeamento de genes de resistência, pois além de apresentar resistência a nematoides é resistente a *Fusarium* e *Macrophomina*, além de tolerante a seca (Huynh *et al.*, 2016; Huynh *et al.*, 2018). A outra cultivar nigeriana IT84S-2049 e as isolinhas NIL-2 genes que possuem os genes *RkRk/QRk-vu9.1* e a NIL-3 genes com os genes *RkRk/QRk-vu9.1/cb3* foram consideradas resistentes a *M. javanica* por Ndeve *et al.* (2018), porém, embora tenha apresentado FR = 0,78 na segunda repetição, a reação foi de suscetibilidade no primeiro ensaio (FR = 1,57) a *M. javanica*.

Populações de *M. javanica* virulentas ao gene *Rk* já foram encontradas (Roberts *et al.*, 1995; Ehlers *et al.*, 2000), e mesmo que esses organismos se reproduzam por partenogênese mitótica, o que limita a adaptabilidade por ausência de recombinação (Castagnone-Sereno & Danchin, 2014), e ter baixa variabilidade intraespecífica (Ghaderi *et al.*, 2020; Koutsovoulos *et al.*, 2020) eles são altamente adaptativos a condições diversas, o que faz com que populações de *Meloidogyne* spp. se encontrem distribuídas mundialmente (Castagnone-Sereno *et al.*, 2013). Estudos para entender de onde parte essa adaptabilidade foram realizados por Kozlowski *et al.* (2020), mostrando que elementos transponíveis (ET) contribuem para a plasticidade genômica, sendo que as frequências de ET dentro de uma população são variáveis, mesmo em isolados oriundos de uma prole única.

Assim, uma população avirulenta, se constantemente exposta ao gene de resistência, pode ter respostas à pressão de seleção para superação da resistência. Isso foi evidenciado por Castagnone-Sereno *et al.* (2019), que compararam genótipos virulentos de *M. incognita* ao gene de resistência *Mi-1* em tomateiro com os genótipos avirulentos que deram origem a elas, observaram que a população virulenta sofreu alterações no número de cópia de alguns genes (principalmente perdas) em regiões do genoma, evidenciando que em espécies partenogênicas a perda genética pode ser um mecanismo adaptativo.

Nenhum genótipo brasileiro neste estudo apresentou FR < 1 sendo todas consideradas suscetíveis a *M. javanica*, porém os genótipos Juazeiro 2, Am-14, MNC-06-895-1 e MNC-06 - 909-68 apresentaram valores de IG < 4, evidenciando de acordo com Bridge & Page (1980) que o crescimento e desenvolvimento das plantas não sejam afetados consideravelmente. Estudo semelhante buscando resistência de cultivares de feijão-caupi a *M. javanica*, mostrou que todas as cultivares apresentaram valores de FR > 1, sendo consideradas suscetíveis (Nascimento, 2008). Resultados diferentes foram encontrados por Dias (2020), ao avaliar

cultivares brasileiras em um experimento preliminar, encontrou duas cultivares resistentes a *M. javanica*, a BRS Milênio e a BRS Imponente, apresentando valor de FR 0,21 e 0,54, respectivamente. Levando em consideração a presença e distribuição de *M. javanica* em regiões produtoras de feijão-caupi (Dias, 2020), a dificuldade de encontrar materiais resistentes se torna um problema, principalmente porque o plantio de cultivares suscetíveis em um campo infestado aumenta significativamente a população de nematoides (Seid *et al.*, 2015), se tornando um obstáculo cada vez maior para seu controle.

O genótipo Juazeiro 2, mesmo parasitada pelo nematoide-das-galhas, apresenta capacidade de emissão de raízes, portanto foi agrupada com os menores valores de NGR e, apesar de não ter sido quantificada a produção, mostrou características vegetativas interessantes, se comportando como planta tolerante, com potencial de uso quando o produtor não dispõe de cultivar resistente ou áreas de plantio livres de nematoides.

Em se tratando de *M. incognita*, a viabilidade do inóculo para a seleção de resistência de feijão-caupi foi comprovada pelos padrões de suscetibilidade que resultaram em FR variando de 2,26 a 15,83, além disso, alguns genótipos chegaram a um valor de FR > 20. Os padrões de resistência IT93K-503-1, IT84S-2049 e NIL-2 genes tiveram baixos valores de FR, por apresentar genes de resistência a *M. incognita*. A resistência encontrada em feijão-caupi ao nematoide-das-galhas foi uma das pioneiras identificada em plantas (Roberts *et al.*, 1996). O gene *Rk* presente nesses materiais foi descoberto por Fery & Dukes (1980), e inicialmente foi observada resistência a *M. incognita*, *M. javanica* e *M. hapla*, sendo que a expressão dessa resistência não está associada a penetração das raízes por esses nematoides, sendo um processo pós-infecção (Das *et al.* 2008).

Porém, os estudos de Roberts *et al.* (1995, 1996), já relatavam populações virulentas de *M. incognita* gene *Rk*, mostrando que algumas populações já haviam superado a resistência. O fato da cultivar IT84S-2049, mostrar-se resistente à população *Rk*-virulenta, foi um indicativo de que ela carregasse um gene complementar dominante associado ao *locus* do gene *Rk*, sendo então encontrado o gene denominado *Rk<sup>2</sup>*, que também está presente na cultivar IT93K-503-1 (Roberts *et al.*, 1996; Adegbite *et al.*, 2005). O *locus Rk* foi mapeado e está presente na QTL *QRk-vu11.1* (Huynh *et al.*, 2015). As isolinhas NIL-2 genes e NIL-3 genes, além do *locus Rk*, também contém a QTL *QRk-vu9.1*, cuja resistência está associada à inibição da produção de massa de ovos (Santos *et al.*, 2018).

Os genótipos MNC06-895-1, MNC04-901-14, MNC06-909-68, MNCO4-907-35, Am60-1 mostraram ser resistentes a *M. incognita*, não permitindo altos valores de multiplicação de nematoides, resultando em menores números de nematoides por grama de raiz. Cultivares

brasileiras resistentes também foram encontrados por Dias (2020), a exemplo da BRS Itaim e BRS Fradinho com os menores valores de FR. Dos 15 genótipos de feijão-caupi avaliados por Adegbite *et al.* (2005) na Nigéria, somente um comportou-se como resistente a *M. incognita*. Em outro estudo, também desenvolvido na Nigéria, Olowe (2007) avaliou 70 genótipos de feijão-caupi e apenas cinco deles apresentaram resistência ao nematoide (Ndeve *et al.*, 2018).

Os genótipos resistentes avaliados no presente estudo tiveram grau de resistência próximos aos genótipos tomados como padrões de resistência, indicando a possibilidade que sejam os mesmos genes, muito provavelmente o gene *Rk*. A genotipagem desses materiais poderão ajudar a esclarecer essas questões (Santos *et al.*, 2018). Com vistas às estratégias de controle, seria mais interessante se fossem novas fontes de resistência, pois o uso contínuo de somente uma fonte de resistência aumenta o risco de surgir populações virulentas do nematoide, como mostrado por Petrillo & Roberts (2005), que estudaram a variação genética em isolados de *M. incognita* avirulentos e virulentos ao gene *Rk* em feijão-caupi e constataram que após 25 gerações da população avirulenta em plantas resistentes, a percentagem de isolados virulentos era de 7%, indicando que uma progênie de uma única fêmea avirulenta pode levar a um genótipo virulento, uma vez que não são fenotipicamente idênticos os indivíduos provenientes de uma mesma massa de ovos.

Para manutenção e aumento da durabilidade da resistência, algumas estratégias podem ser adotadas, como o uso de multilinhas, que são misturas de linhagens isogênicas, que se diferenciam por possuírem os genes de resistência (Okonya & Maass, 2014; Castro, 2019). A piramidação de genes, onde vários genes de resistência são incorporados em uma única cultivar, reduzindo a probabilidade do surgimento de raças (Kelly & Miklas, 1998; Arruda, 2009). A rotação de genes também é uma alternativa para impedir a seleção de raças, pois consiste na rotação de cultivares com genes diferentes de resistência (Mundt, 2014).

Por isso a identificação de novas fontes de resistência, contribuirá para o manejo do nematoide-das-galhas para melhor condução da cultura do feijão-caupi, como também sua expansão à novas áreas de cultivo (Freire Filho, 2011a). Os bancos de germoplasma são de suma importância para pesquisa, melhoramento e desenvolvimento de novas cultivares, pois eles mantêm um número de acessos que abrange uma rica diversidade, sendo esses acessos conservados, regenerados, caracterizados e disponibilizados para uso (Veiga *et al.*, 2012; Holanda *et al.*, 2019).

O ciclo de vida de *M. incognita* em feijão-caupi foi de 24 dias à temperatura 19,2-23,9 °C, concordando com os resultados encontrados por Niño-Castañeda *et al.* (2017) que relataram o ciclo de *M. incognita* em banana a 25+5 °C de 24 dias. Hernández-Ochandía *et al.* (2012)

estudando o ciclo de vida de *M. incognita* em tomateiro relatou que o ciclo foi de 24 dias a 18-21 °C. O ciclo de vida geralmente é linearmente relacionado com a temperatura, mas está relacionada também com a espécie e a suscetibilidade do hospedeiro (Ploeg & Maris, 1999). Nos dois genótipos, MNC-04-792F-158, suscetível, quanto no genótipo NIL-CB3-egg, portadora de genes que inibem a formação de galhas (*cb3*), a duração do ciclo de vida foi a mesma. Das *et al.* (2008) observou que aos 21 dias as fêmeas apresentaram maturidade reprodutiva e começou a produzir ovos nas plantas suscetíveis à 26-28°C.

A isolinha NIL-CB3-egg carrega um gene de resistência à formação de galhas, apresentando IG < 3 quando desafiados com *M. incognita* (Ndeve *et al.*, 2018), como visto também no presente estudo. A coloração de nematoides em raízes com fucsina ácida mostrou que pequenas galhas são formadas na isolinha NIL-CB3-egg, mas em quantidade e tamanhos menores que no genótipo MNC-04-792F-158. Porém, analisando os valores de FR e a reação dessa isolinha a *M. incognita*, observamos que o controle genético da formação de galhas encontra-se independente da resistência, como relatado por Roberts *et al.* (2008), que revelaram que a resistência a nematoides e à formação de galhas feijão-fava estavam sendo regulados por mecanismos de controle genético independentes. Além disso, constataram que se a planta era portadora apenas do alelo dominante de não formação de galhas, a planta tinha resposta resistente, enquanto se fosse portadora do alelo recessivo a planta tinha resposta suscetível. Mesmo sendo independentes, a presença do gene *cb3* diminuiu a multiplicação de nematoides na raiz, e foi também observado menor quantidade de indivíduos dentro das raízes coradas com fucsina, comparada a planta suscetível (dados não quantificados), além disso a produção de machos foi muito mais acentuada na NIL-CB3-egg. Geralmente sob condições ambientais favoráveis, os juvenis se desenvolvem em fêmeas, enquanto que a produção de machos é acentuada em condições desfavoráveis, como alta densidade de inóculo, fatores ambientais que levam ao estresse da hospedeira e genes de resistência (Davide & Triantaphyllou, 1967; Triantaphyllou, 1973; Moura *et al.*, 1993) e então pode inferir-se, que o gene *cb3* afetou a formação de fêmeas, condicionando um ambiente desfavorável para a finalização do ciclo do nematoide.

O conhecimento de novos genes de resistência e a sua atuação no controle é de primordial importância para o desenvolvimento de cultivares de feijão-caupi altamente produtivas e resistentes ao nematoide-das-galhas, contribuindo para a intensificação e expansão da cultura do feijão-caupi no Brasil. O presente estudo contribui para o conhecimento de fonte de resistências brasileiras que podem ser usadas em programas de melhoramento, tendo em vista ter como vantagens baixo custo, fácil utilização e menor impacto ao meio ambiente.

Encontrar novas fontes de resistência para *M. incognita* e principalmente para *M. javanica* é de grande importância para melhorar condições de produção de feijão-caupi. A variabilidade genética e a resistência encontrada entre os materiais, pode ser um ponto de partida para perspectiva de futuros estudos de mapeamento genético de resistência.

## 6. CONCLUSÕES

Para testes de avaliação de resistência a *M. javanica* conclui-se que a melhor dose foi de  $14 \times 10^3$ .

Nenhum genótipo brasileiro de feijão-caupi apresentou resistência à *M. javanica*.

Os genótipos MNC06-895-1, MNC04-901-14, MNC06-909-68, MNCO4-907-35, Am60-1 foram resistentes a *M. incognita*.

O gene *cb3* estimulou a produção de machos de *Meloidogyne incognita*.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIYAH, R.N.H.A.; MONERUZZAMAN, K.M.; NASHRIYAH, M. 2016. Occurrence and control of root knot nematode in crops: A review. *Australian Journal of Crop Science* 11(12): 1649-1654.

ABOULEID, H.Z.; EL-KOLOUB, K.; ABDEL-FATTAH, S.; TAHA, A.H.T.; HASABO, S.A.; NOWEER, E.M.A. 2015. Pathological effects of *Heterodera cajani* on cowpea plants grown in three different soil types. *American-Eurasian J. Agric. & Environ.* 5(1): 1048-1058.

ADAM, M.A.M. PHILLIPS, M.S. JONES, J.T. BLOK, V.C. 2008. Characterization of the cellulose-binding protein Mj-cbp-1 of the root knot nematode, *Meloidogyne javanica*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 72: 21–28.

ADEGBITE, A.A. 2011. Assessment of yield loss of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) due to root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* under field conditions. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 10:2042-2048.

ADEGBITE, A.A.; AMUSA, N.A.; AGBAJE, G.O.; TAIWO, L.B. 2005. Screening of cowpea varieties for resistance to *Meloidogyne incognita* under field conditions. *Nematropica* 35(2):155-159.

AGRIOS, G.N. 2005. *Plant Pathology*, 5<sup>th</sup> ed. Department of Plant Pathology, University of Florida, Academic Press, Massachusetts. 1051p.

AGROFIT. 2021.Consulta de Praga/Doença. Disponível em: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 08 de fev. 2021

ALBUQUERQUE, E.V.S.; CARNEIRO, R.M.D.G.; COSTA, P.M.; GOMES, A.C.M.M.; SANTOS, M.; PEREIRA, A.A.; NICOLE, M.; GROSSI-DE-SÁ, M.F. 2010. Resistance to *Meloidogyne incognita* expresses a hypersensitive-like response in *Coffea arabica*. *European Journal of Plant Pathology* 127(3):365–373.

ALONSO, S.K.; ALFENAS, A.C. 1998. Isoenzimas na taxonomia e na genética de fitonematoides. *In*: ALFENAS, A.C. (Ed). Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins, fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Editora UFV, Viçosa. p.1-13.

ALVES, P.V.V. 2015. Nematoides associados à cultura da soja na Região Integrada de Desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno-RIDE. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Fitopatologia – UnB. 79p.

AMMIRAJU, J.S.; VEREMIS, J.C.; HUANG, X.; ROBERTS, P.A.; KALOSHIAN, I. 2003. The heat-stable root-knot nematode resistance gene Mi-9 from *Lycopersicon peruvianum* is localized on the short arm of chromosome 6. Theoretical and Applied Genetics 106:478–484.

AMORIM, F.T. de; SILVA, S.A.; MATTOS, V.S.; CARNEIRO, R.M.D.G.C.; MACHADO, A.C.Z.M. 2019. Técnicas biomoleculares aplicadas à Nematologia. In: MACHADO, A.C.Z.; SILVA, S.A. da; FERRAZ, L.C.C.B. Métodos em Nematologia Agrícola. Piracicaba: Sociedade Brasileira de Nematologia. p.71-92.

ARRUDA, K.M.A. 2009. Piramidação de genes de resistência à antracnose, ferrugem e mancha angular e estudos de alelismo em feijão comum. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Fitotecnia-UFV, 142p.

ASMUS, G.L.; GALBIERI, R. 2013. Densidade populacional e distribuição espacial de *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* em algodoeiro em sistema de plantio adensado. Nematologia Brasileira 37: 42-47.

ASMUS, G.L.; RICHETTI, A. 2010. Rotação de culturas para o manejo do nematoide reniforme em algodoeiro. Embrapa Agropecuária Oeste, 28p.

ASSOUMANA, B.; HABASH, S.; NDIAYE, M.N; PUIJE, G.V.; SARR, E.; ADAMOU, H.; GRUNDLER, F.M.W.; ELASHRY, A. 2017. First report of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* parasiting sweet pepper (*Capsicum annuum*) in Niger. New Disease Reports 36:18.

ATHAYDE SOBRINHO, C. 2016. Capítulo 3. Principais doenças do feijão-caupi no Brasil. In: BASTOS, E.A. A cultura do feijão-caupi no Brasil. Teresina: Embrapa Meio Norte. p.44-67.

BABATOLA, J.O.; OMOTADE, M.A. 1991. Chemical control of the nematode pests of cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Crop Protection 10(2):121-124.

BELAN, L.L.; ALVES, F. R.; COSTA, D. C.; FONSECA, S. O.; MORAES, W. B.; SOUZA, A. F.; JESUS JUNIOR, W.C. 2011. Effects of increasing density of *M. javanica*

inoculum on vegetative development in cherry tomato genotypes. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas* 5(1):22-30.

BELLAFFIORE, S.; SHEN, Z.X.; ROSSO, M.N.; ABAD, P.; SHIH, P.; BRIGGS, S.P. 2008. Direct identification of the *Meloidogyne incognita* secretome reveals proteins with host cell reprogramming potential. *PLOS Pathogens* 4:e1000192.

BERNARD, G.C.; EGNIN, M.; BONSI, C. 2017. The impact of plant-parasitic nematodes on agriculture and methods of control. *Nematology - concepts, diagnosis and control*. IntechOpen, 192p.

BERNARDO, E.R.A.; SANTOS, J.M. 2004. Patogenicidade in vitro de *Monacrosporium robustum* a *Rotylenchulus reniformis*. *Ciência Rural* 34(4):1239-1241.

BLACKHURST, H.T.; MILLER JUNIOR, J.C. 1980. Cowpea. In: WALTER, R.; HENRY, H.H. (Eds). *Hybridization of crop plants*. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, Madison. p. 327-337.

BLANC-MATHIEU, R.; PERFUS-BARBEOCH, L.; AURY, J.M.; ROCHA, M.D.; GOUZY, J.; SALLET, E.; MARTIN-JIMENEZ, C.; BAILLY-BECHET, M.; CASTAGNONE-SERENO P.; FLOT, J.F.; KOZLOWSKI, D. K.; CAZARETH, J.; COULOUX, A.; SILVA, C.; GUY, J.; KIM-JO, Y.; RANCUREL, C.; SCHIEX, T.; ABAD, P.; WINCKER, P.; DANCHIN, E.G.J. 2017. Hybridization and polyploidy enable genomic plasticity without sex in the most devastating plant-parasitic nematodes. *PLOS Genet* 13(6): e1006777.

BRIDGE, J.; PAGE, S.L.J. 1980. Estimation of root-knot nematode infestation levels on roots using a rating chart. *Tropical Pest Management* 26:296-298.

BURELLE, N.K.; ROSSKOPF, E.N. 2011. Microplot evaluation of rootstocks for control of *Meloidogyne incognita* on grafted tomato, muskmelon, and watermelon. *Journal of Nematology* 43(4):166-171.

CARDOSO, M.J.; BASTOS, E.A.; ANDRADE J., ADERSON, S. de.; ATHAYDE SOBRINHO, C. 2017. *Feijão-caupi: O produtor pergunta, a Embrapa responde*. Brasília: Embrapa, 250p.

CARNEIRO, G.E.S.; DIAS, W.P.; FOLONI, J.S.S.; MOREIRA, A.; SANTOS, J.C.F.; SOUZA, C.F. de B.; SILVA NETO, S.P.; PEREIRA, A.F. 2019. Comportamento de genótipos

de soja em área naturalmente infestada com *Meloidogyne incognita*. 37º Reunião de Pesquisa de Soja, 112-115.

CARNEIRO, R.M.D.G.; CARVALHO F.L.C.; KULCZYNSKI, S.M. 1998. Seleção de plantas para o controle de *Mesocriconema xenoplax* e *Meloidogyne* spp. através de rotação de culturas. *Nematologia Brasileira* 22:41-48.

CARNEIRO, R.M.D.G.; MONTEIRO, J.M.S.; SILVA, U.C.; GOMES, G. 2016. Gênero *Meloidogyne*: diagnose através de eletroforese de isoenzimas e marcadores SCAR. *In: OLIVEIRA, C.M., DOS SANTOS, M.A.; CASTRO, L.H.S. (Eds). Diagnose de fitonematoides. Millennium, Campinas, Brasil. p.71-93.*

CASTAGNONE-SERENO, P.; DANCHIN, E.G.J. 2014. Parasitic success without sex – the nematode experience. *Journal of Evolutionary Biology* 27(7):1323-1333.

CASTAGNONE-SERENO, P.; ETIENNE G.J.; DANCHIN, E.G.J.; PERFUS-BARBEOCH, L.; ABAD, P. 2013. Diversity and evolution of root-knot nematodes, genus *Meloidogyne*: new insights from the genomic era. *Annual Review of Phytopathology* 51:203-220.

CASTAGNONE-SERENO, P.; MULET, K.; DANCHIN, E.G.J.; KOUTSOVOULOS, G.D.; KARALIC, M.; DA ROCHA, M.; BAILLY-BECHET, M.; PRATX, L.; PERFUS-BARBEOCH, L.; ABAD, P. 2019. Gene copy number variations as signatures of adaptive evolution in the parthenogenetic, plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Molecular Ecology* 28(10):2559-2572.

CASTILLO, P.; VOVLAS, N. 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management. *Nematology Monographs and Perspectives. Entomological Society of Canada, 530p.*

CASTRO, D.G. 2019. Multilinha visando estabilidade fenotípica e resistência a brusone em arroz. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia – UFLA, 67p.

CGIAR. CONSULTATIVE GROUP ON INTERNATIONAL AGRICULTURAL RESEARCH. 2020. Cowpea. Disponível em: <<https://ccaafs.cgiar.org/resources/publications/evaluation-cowpea-vigna-unguiculata-l-walp-germplasm-lines-tolerance>>. Acesso em 04 de jan. de 2021.

CHANDRA, B.; KHAN, M.R. 2010. Dynamics of soil nematodes in vegetable-based crop sequences in West Bengal, Índia. *Journal of Plant Protection Research* 51(1):1-7.

CHARCHAR, J.M.; HORINO, Y.; MOITA, A.W. 1995. Reação de cultivares de feijão-de-vagem em áreas infestadas por *Meloidogyne javanica*. *Horticultura Brasileira* 13(1):77.

CHISHOLM, S.T.; COAKER, G.; DAY, B.; STASKAWICZ, B.J. 2006. Host-microbe interações: moldando a evolução da resposta imune da planta. *Célula* 124:803-814.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. 2021. Acompanhamento da safra brasileira: grãos. Décimo segundo levantamento. 94p. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra-graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 11 jan. 2021.

CONSELHO NACIONAL DE PESQUISA. 2006. Lost crops of Africa: Vegetables. *Development, Security, and Cooperation Policy and Global Affairs* 2. 408p.

COOLEN, W.A.; D'HERDE, C.J. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. *Ghent*, 77p.

CORREA, A.M.; CECCON, G.; CORREA, C.M.A.; DELBEN, D.S. 2012. Estimativas de parâmetros genéticos e correlações entre caracteres fenológicos e morfoagronômicos em feijão-caupi. *Revista Ceres* 59: 88-94.

COSGROVE, D.J. 2005. Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 6:850–861.

DAS, S.; DEMASON, D.A.; EHLERS J.D.; CLOSE, T.J.; ROBERTS, P.A. 2008. Histological characterization of root-knot nematode resistance in cowpea and its relation to reactive oxygen species modulation. *Journal of Experimental Botany* 56(6): 1305-1313.

DAVIDE, R.G.; TRIANTAPHYLLOU, A.C. 1967. Influence of the environment on development and sex differentiation of root-knot nematodes II. Effect of host nutrition. *Nematologica* 13:111-117.

DAVIS, E.L.; HUSSEY, R.S.; BAUM, T.J.; BAKKER, J.; SCHOTS, A. 2000. Nematode parasitism genes. *Annual Review of Phytopathology* 38:365–396.

DE LEY P.; BLAXTER M. 2004. A new system for Nematoda: combining morphological characters with molecular trees, and translating clades into ranks and taxa. *Nematology Monographs and Perspectives* 2:633–653.

DE LEY, P.; BLAXTER, M.L. 2002. Systematic position and phylogeny. *In*: LEE, D.L. (Ed.). *The Biology of Nematodes*, London: Taylor and Francis, pp. 1–30.

DERPSCH, R.; CALEGARI, A. 1992. Guia de plantas para adubação verde de inverno. Londrina PR. IAPAR. Documentos 9, 78p.

DEVTRAN, Z.; BAYSAL, Ö. 2018. Induction of resistance to *Meloidogyne incognita* by DL-Beta amino butyric acid under salt stress condition. *Australasian Plant Disease Notes* 13(1).

DIAS, M.A. 2020. Seleção de acessos de feijão-caupi resistentes ao nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.). Dissertação. Universidade de Brasília, Departamento de Fitopatologia, 59p.

DIAS, W.P.; GARCIA, A.; SILVA, J.F.V.; CARNEIRO, G.E.S. 2010. Nematoides em soja: identificação e controle. Circular Técnica. Londrina, 8p. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPSO-2010/30766/1/CT76-eletronica.pdf>> acesso em: 31 jul. 2019.

DIAS-ARIEIRA, C.R.; FURLANETTO, C.; SANTANA, S.M.; BARIZÃO, D.A.O.; RIBEIRO, R.C.F.; FORMENTINI, H.M. 2010. Fitonematoides associados a frutíferas na região Noroeste do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura* 32(4):1064-1071.

DJIAN-CAPORALINO, C.; PIJAROWSKI, L.; FAZARI, A.; SAMSON, M.; GAVEAU, L.; O'BYRNE, C.; LEFEBVRE, V.; CARANTA, C.; PALLOIX, A.; ABAD, P. 2001. High-resolution genetic mapping of the pepper (*Capsicum annuum* L.) resistance loci Me3 and Me4 conferring heat-stable resistance to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). *Theoretical and Applied Genetics* 103:592–600.

DO VALE, J.C.; BERTINI, C.; BORÉM, A. 2017. Feijão-caupi: do plantio à colheita. Editora UFV, 267p.

EHLERS, J.D.; MATTHEWS, J.; HALL, A.E.; ROBERTS, P.A. 2000. Inheritance of a broad-based form of root-knot nematode resistance in cowpea. *Crop Science* 40(3): 611-618.

EISENBACK, J.D. 1985. Detailed morphology and anatomy of second-stage juveniles, males, and females of the genus *Meloidogyne* (root-knot nematodes). In: SASSER, J.N.; CARTER, C.C.; BARKER, K.R. (Eds). An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Raleigh: North Carolina State University Graphics, v.2. Methodology. p.47-78.

EISENBACK, J.D.; TRIANTAPHYLLOU, H.H. 1991. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races. In: NICKLE, W.R. (Ed.), Manual of Agricultural Nematology. Marcel Dekker, New York, pp. 191–274.

EL-NAGDI, W.M.A.; ABD-EL-KHAIR, H. 2017. Application of certain bacterial and fungal species for controlling *Meloidogyne incognita* parameters in cowpea. International Journal of Entomology and Nematology 3(2):70-76.

ERB, M.; MELDAU, S.; HOWE, G.A. 2012. Role of phytohormones in insect-specific plant reactions. Trends in Plant Science 17: 250–259.

ESBENSHADE, P.R.; TRIANTAPHYLLOU, A.C. 1990. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. Journal of Nematology 22:10-15.

FERRAZ, L.C.C.B. 2018. Nematoides. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIM FILHO, A. (Eds). Manual de Fitopatologia. Editora Agronômica Ceres Ltda, Ouro Fino-MG, pp. 195-211.

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

FERREIRA, D. F. 2019. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. Revista brasileira de biometria 37(4): 529-535.

FERY, R.L., DUKES, P.D., THIES, J.A. 1994. Characterization of new sources of resistance in cowpea to the southern root-knot nematode. HortScience 29(6):678–679.

FERY, R.L.; DUKES, P.D. 1980. Inheritance of root-knot resistance in the cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). American Society of Horticultural Science 105:671–674.

FLOR, H.H. 1956. The complementary genic systems in flax and flax rust. Advances in Genetics 8:29-54.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). 2018. FAOStat, World Production. Disponível em: < <http://www.fao.org/>>. Acesso em: 11 jan. 2021.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; CARDOSO, M. J.; AZEVEDO, J. N. de; RAMOS, S. R. R.; ROCHA, M. de M.; SILVA, K. J. D. 2011a. Coleção ativa de germoplasma de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e de outras espécies do gênero *Vigna*, da Embrapa Meio-Norte, no período de 1976 a 2003. Embrapa Meio-Norte, 126p.

FREIRE FILHO, F.R.; RIBEIRO V.Q.; ROCHA, M.M.; SILVA, K.J.D.; NOGUEIRA, M.S.; RODRIGUES, E.V. 2011b. Produção, melhoramento genético e potencialidades do feijão-caupi no Brasil. Teresina, Embrapa Meio-Norte. 84p.

FROTA, K.G.; MORGANO, M.A.; SILVA, M.G. da. 2008. Utilização da farinha de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) na elaboração de produtos de panificação. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Teresina. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v30s1/3183.pdf>>. Acesso em: 29 jul. 2019.

GHADERI, R.; DEHGHAN, A.A.; HESAR, A.M.; KAREGAR, A. 2020. Genetic intraspecific diversity of *Meloidogyne javanica* parasitizing vegetables in southern Iran. Journal of Nematology 52:1-13.

GÓMEZ, C. 2004. Cowpea: Post-harvest operations. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 71p.

HAEGEMAN, A.; MANTELIN, S.; JONES, J.T.; GHEYSEN, G. 2012. Functional roles of effectors of plant-parasitic nematodes. Gene 492(1):19–31.

HALL, A.E.; THIAW, N.C.S.; ELAWAD, H.O.A.; EHLERS, J.D.; ISMAIL, A.M.; FERY, R.L; ROBERTS, P.A.; KITCH, L.W.; MURDOCK, L.L.; BOUKAR, O.; PHILLIPS, R.D.; MCWATTERS, K.H. 2003. Development of cowpea cultivars and germplasm by the Bean/Cowpea CRSP. Field Crops Research 82:103–134.

HARTMAN, K.M.; SASSER, J.N. 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host and perineal pattern morphology. In: BARKER, K.R.; CARTER, C.C.; SASSER, J.N. (Eds). An advanced treatise on *Meloidogyne*. Raleigh: North Carolina State University Graphics. v. 2. Methodology. p.115-123.

HASEEB, A.; SHARMA, A.; SHUKLA, P.K. 2002. Effect of initial inoculum levels of *Meloidogyne incognita* on root-knot development and growth of *Vigna radiata* cv. ML-1108. Indian Journal of Nematology 35(1):93-94.

HERNÁNDEZ-OCHANDÍA, D.; ARIAS, Y.; GÓMEZ, L.; PETEIRA. B.; MIRANDA, I.; RODRÍGUEZ. M.G. 2012. Elementos del ciclo de vida de una población

cubana de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood en *Solanum lycopersicum* L. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. Revista Protección Vegetal 27 (3):188-193.

HOLANDA, A.F.O.; FRANCISCA, R.G.A.; WESLEY, W.A.; SILVA, A.K.F. 2019. A importância da conservação de feijão-caupi em banco ativo de germoplasma. Revista Encontros Universitários da UFC 3(1):1-3.

HOOPER, D.J. 1986. Handling, fixing, staining and mounting nematodes. In: SOUTHEY, J.F. (ed). Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Her Majesty's Stationery Office, London. p. 59-80.

HUANG, J. S. 1985. Mechanisms of resistance to root-knot nematodes. Pages 165-174 In: An advanced treatise on Meloidogyne. Volume I: Biology and Control. C. C. SASSER AND J. N. CARTER, eds. North Carolina State University Graphics, Raleigh, 422p.

HUYNH, B.; MATTHEWS, W.C.; EHLERS, J.D.; LUCAS, M.R.; SANTOS, J.R.P.; NDEVE, A.; CLOSE, T.J.; ROBERTS, P.A. 2015. A major QTL corresponding to the Rk locus for resistance to root-knot nematodes in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). Theoretical and Applied Genetics 129(1): 87-95.

IITA. INTERNATIONAL INSTITUTE OF TROPICAL AGRICULTURE. 2020. Genetic diversity and population structure of a mini-core subset from the world cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) germplasm collection. Disponível em: < Genetic diversity and population structure of a mini-core subset from the world cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) germplasm collection (iita.org)>. Acesso em 04 de jan. de 2021.

INOMOTO, M.M.; ASMUS, G.L. 2010. Host status of graminaceous cover crops for *Pratylenchus brachyurus*. Embrapa, Mato Grosso do Sul, p. 4.

ITO, D.S.; MATUNAGA, D.S.; SILVA, A.G. DORIGO, O.F.; MACHADO, A.C.Z.; CARNEIRO, R.M.D.G. Identificação bioquímica de *Meloidogyne* spp. In: MACHADO, A.C.Z.; SILVA, S.A. da; FERRAZ, L.C.C.B. (Eds). 2019. Métodos em nematologia agrícola. Piracicaba: Sociedade Brasileira de Nematologia. p. 71-92.

JASMER, D.P.; GOVERSE, A.; SMANT, G. 2003. Parasitic nematode interactions with mammals and plants. Annual Review Phytopathology 41:245–270.

JONES, J.D.G.; DANGL, J.L. 2006. The plant immune system. Nature 444:323–329.

JORGE JUNIOR, A.S. 2016. Espécies de *Meloidogyne* em hortaliças e outras culturas provenientes de áreas periurbanas da África Subsaariana. Dissertação. Universidade de Brasília, Departamento de Fitopatologia, 93p.

KANKAM, F.; ADOMAKO, J. 2014. Influence of inoculum levels of root knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Asian Journal of Agriculture and Food Science 2(2):171-178.

KARAPANOS, I.; PAPANDREOU, A.; SKOULUDI, M.; MAKROGIANNI, D.; FERNÁNDEZ, J. A. ROSA, E.; NTATSI, G.; BEBELIA, P.J.; SAVVASA, D. 2017. Cowpea fresh pods – a new legume for the market: assessment of their quality and dietary characteristics of 37 cowpea accessions grown in southern Europe. Society of Chemical Industry 97(13):4343-4352.

KATSANDE, S.; BALOYI, J.J.; NHERERA-CHOKUDA, F.V.; NGONGONI, N.T.; MATOPE, G.; ZVINOROVA, P.I.; GUSHA, J. 2016. Apparent digestibility and microbial protein yield of *Desmodium uncinatum*, *Mucuna pruriens* and *Vigna unguiculata* forage legumes in goat. African Journal of Range & Forage Science 33(1): 53-58.

KAYANI, M.Z.; MUKHTAR, T.; HUSSAIN, M.A. 2017. Effects of southern root knot nematode population densities and plant age on growth and yield parameters of cucumber. Crop protection 92:207-212.

KELLY, J.D.; MIKLAS, P.N. 1998. The role of RAPD markers in breeding for disease resistance in common bean. Molecular Breeding 4(1):1-11.

KHAN, A.; ASIF, M.; TARIQ, M.; REHMAN, B.; PARIHAR, K.; SIDDIQUI, M.A. 2017. Phytochemical investigation, nematostatic and nematicidal potential of weeds extract against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* in vitro. Asian Journal of Biological Sciences 10(2):38-46.

KHAN, M.W.; HAIDER, S.R. 1991. Comparative damage potential and reproduction efficiency of *Meloidogyne javanica* and races of *Meloidogyne incognita* on tomato and eggplant. Nematologica 37(4): 293–303.

KHAN, T.A.; AZMI, I.T.; SHARMA, S. 2012. Comparative studies on the pathogenic potential of *Meloidogyne* spp. on mung bean (*Vigna radiata* L.). African Journal of Microbiology Research 6(44):7134-7138.

KOUTSOVOULOS, G.D.; MARQUES, E.; ARGUEL, M.-J.; DURET, L.; MACHADO, A.C.Z.; CARNEIRO, R.M.D.G.; KOZLOWSKI, D.K.; BAILLY-BECHET, M.; CASTAGNONE-SERENO, P.; ALBURQUERQUE, E.V.S.; DANCHIN, E.G.J. 2020. Population genomics supports clonal reproduction and multiple independent gains and losses of parasitic abilities in the most devastating nematode pest. *Evolutionary Applications* 13:442-457.

KOZLOWSKI, D.K.L.; HASSANALY-GOULAMHOUSSEN, R.; ROCHA, M.; KOUTSOVOULOS, G.; BAILLY-BECHET, M.; DANCHIN, E.G.J. 2020. Transposable elements are an evolutionary force shaping genomic plasticity in the parthenogenetic root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Peer Community in Evolutionary Biology* p.38.

KUBO, R.K.; MACHADO, A.C.Z.; OLIVEIRA, C.M.G. 2012. Efeito do tratamento de sementes no controle de *Rotylenchulus reniformis* em dois cultivares de algodão. *Arquivos do instituto biológico* 79(2):239-245.

LIMA, E.A.; MATTOS, J.K.; MOITA, A.W.; CARNEIRO, R.G.; CARNEIRO, R.M.D.G. 2009. Host status of different crops for *Meloidogyne ethiopica* control. *Tropical Plant Pathology* 34(3):152-157.

LIMA-MEDINA, I.; SOMAVILLA, L.; CARNEIRO, R.M.D.G.; GOMES, C.B. 2013. Espécies de *Meloidogyne* em figueira (*Ficus carica*) e em plantas infestantes. *Nematropica* 43(1):56-62.

LIRA, V.L.; COSTA, A.F.; MOURA, R.M.; MAIA, L.C. 2018. *Rotylenchulus reniformis* (Nematoda: Tylenchida): Biologia, identificação, patogenicidade e manejo. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica* 15 (2):91-102.

LONARDI, S.; AMATRIAÍN, M.M.; LIANG, Q.; SHU, S.; WANAMAKER, S.I.; LO, S.; TANSKANENN, J.; SCHULMAN, A.H.; ZHU, T.; LUO, M.C.; ALHAKAMI, H.; OUNIT, R.; HASAN, A.M.; VERDIER, J.; ROBERTS, P.A.; SANTOS, J.R.P.; NDEVE, A.; DOLEZEL, J.; VRANA, J.; HOKIN, S.A.; FARMER, A.D.; CANNON, S.B.; CLOSE, T.J. 2019. The genome of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *The Plant Journal* 98(5): 767-782.

LOPES, C.M.L.; CARES, J.E.; PERINA, F.J.; NASCIMENTO, G.F.; MENDONÇA, J.S.F.; MOITA, A.W.; CARNEIRO, R.M.D.G. 2019. Diversity of *Meloidogyne incognita* populations from cotton and aggressiveness to *Gossypium* spp. accessions. *Plant Pathology* 68(4):816–824.

LÓPEZ, C.G.; CASTELLANOS, L.N.M.; ORTIZ, N.A.F.; GONZÁLEZ, J.A.G. 2018. Control of powdery mildew (*Leveillula taurica*) using *Trichoderma asperellum* and *Metarhizium anisopliae* in different pepper types. *BioControl* 64(1):77-89.

MACHADO, A.C.Z.; SILVA, S.A. da; FERRAZ, L.C.C.B. 2019. Métodos em nematologia agrícola. Piracicaba: Sociedade Brasileira de Nematologia 184 p.

MAGALHÃES, P.R. 2018. Comportamento de cultivares de feijão-caupi ao parasitismo de *Meloidogyne* spp. e avaliação do efeito da salinidade na eclosão, motilidade, sobrevivência e infectividade de *M. enterolobii*. Dissertação. Universidade Federal do Ceará, Departamento de Fitotecnia, 73p.

MATTOS, V.S.; LEITE, R.R.; CARES, J.E.; GOMES, A.C.M.M.; MOITA, A.W.; LOBO, V.L.S.; CARNEIRO, R.M.D.G. 2019. *Oryza glumaepatula*, a new source of resistance to *Meloidogyne graminicola* and histological characterization of its defense mechanisms. *Phytopathology* 109(11):1941-1948.

MILLIGAN, S.B.; BODEAU, J.; YAGHOUBI, J.; KALOSHIAN, I.; ZABEL, P.; WILLIAMSON, V.M. 1998. The root knot nematode resistance gene Mi from tomato is a member of the leucine zipper, nucleotide binding, leucine-rich repeat family of plant genes. *Plant Cell* 10(9):1307–1319.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). 2018. Pragas quarentenárias A1. Disponível em: [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/arq\\_editor/file/vegetal/Importacao/Arquivos%20de%20Quarentenas\\_Pragas/Listas%20de%20Pragas%20Quarenten%C3%A1rias%20Ausentes%20-%20A1](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/arq_editor/file/vegetal/Importacao/Arquivos%20de%20Quarentenas_Pragas/Listas%20de%20Pragas%20Quarenten%C3%A1rias%20Ausentes%20-%20A1). Acesso em: 13 fev. 2021.

MIZOBUTSI, E.H.; FERRAZ, S.; MIZUBUTI, E.S.G.; ARIEIRA, C.R.D.; RIBEIRO, R.C.F. 2012. Viabilidade e sobrevivência do inóculo de *Heterodera glycines* raça 3 no solo. *Tropical Plant Pathology* 37(3):223-226.

MODESTO JUNIOR, S.M.; ALVES, R.N.B. 2012. Custo de produção de feijão-caupi cultivado em sistemas de parcagem e tração animal, no município de Tracuateua, Pará. *Amazônia: Ciência e Desenvolvimento* 8(15):7-16.

MOENS, M.; PERRY, R.N.; STARR, J.L. 2009. *Meloidogyne* species: a diverse group of novel and important plant parasites. In: PERRY, R.N.; MOENS, M.; STARR, J.L. (Eds). Root-knot nematodes. CAB International, London. p. 1-18.

MOLINA, R.O.; COSTA, A.T. 2008. Nematoides causadores de doenças em frutíferas. *Agroambiente* 2(1):46-56.

MOLINARI, S. 2010. Natural genetic and induced plant resistance, as a control strategy to plant-parasitic nematodes alternative to pesticides. *Plant Cell Reports* 30(3): 311–323.

MOURA, R.M.; DAVIS, E.L.; LUZZI, B.M.; BOERMA, H.R.; HUSSEY, R.S. 1993. Postinfectious development of *Meloidogyne incognita* on susceptible and resistant soybean genotypes. *Nematropica* 23:7–13.

MUKHERJEE, A.; SINHA BABU, S.P. 2012. *Pseudomonas fluorescens* mediated suppression of *Meloidogyne incognita* infection of cowpea and tomato. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 46: 607-616.

MUKHTAR, T.; HUSSAIN, M.A.; KAYANI, M.Z.; ASLAM, M.N. 2014. Evaluation of resistance to root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in okra cultivars. *Crop Protection* 56: 25–30.

MUNDT, C.C. 2014. Durable resistance: A key to sustainable management of pathogens and pests. *Infection, Genetics and Evolution* 27:446-455.

NAMA, C.P.; SHARMA, H.K. 2017. Bio-management of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on cowpea (*Vigna unguiculata* L.). *Journal of Entomology and Zoology Studies* 5(3): 50-52.

NASCIMENTO, R.R.S. 2008. Levantamento de nematóides associados à cultura do caupi no estado do rio de janeiro e avaliação de linhagens de caupi à infecção por *Meloidogyne incognita* raça 1, *M. javanica* e *Rotylenchulus reniformis*. Dissertação. Curso de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada – UFRRJ, 54p.

NDEVE, A.D.; MATTHEWS, W.C.; SANTOS, J.R.P.; HUYNH, B.L.; ROBERTS, P.A. 2018. Broad-based root-knot nematode resistance identified in cowpea gene-pool two. *Journal of Nematology* 50(4): 545–558.

NG, Q.; PADULOSI, S. 1988. Cowpea genepool distribution and crop improvement. *In: NG, Q.; PERRINO P.; ATTERE, F.; ZEDAN, H (Eds) Crop Genetic Resources of Africa, v.II. IBPGR, Rome. p. 161–174.*

NGUYỄN, P.V.; BELLAFFIORE, S.; PETITOT, A.S.; HAIDAR, R.; BAK, A.; ABED, A.; GANTET, P.; MEZZALIRA, I.; ENGLER, J.A.; FERNANDEZ, D. 2014. *Meloidogyne*

*incognita* - rice (*Oryza sativa*) interaction: a new model system to study plant-root-knot nematode interactions in monocotyledons. *Rice* 7(1):1-13.

NIÑO- CASTAÑEDA, N.E.; ALVES, G.S.C.; ALMEIDA, R.M.; AMORIM, E.P.; FERREIRA, C.F.; TOGAWA, R.C.; COSTA, M.M.C.; GRYNBERG, P., SANTOS, J.R.P.; CARES, J.E.; MILLER, R.N.G. 2017. Gene expression analysis in *Musa acuminata* during compatible interactions with *Meloidogyne incognita*. *Annals of Botany* 119(5):915-930.

NWOKOLO, E.; ILECHUKWU, S.N. 1996. Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *In: SMARTT, J., NWOKOLO, E. (Eds). Food and feed from legumes and oilseeds. Springer, Londres. pp. 229–242.*

NYCZEPIR, A.P.; THOMAS, S.H. 2009. Current and Future Management Strategies in Intensive Crop Production Systems. *In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J.L. (Eds). Root-knot nematodes. CAB International, London. p. 1-531.*

OGUNFOWORA, A.O. 1977. Effects of different population levels of *Meloidogyne incognita* on the yield of tomato in South Western Nigeria. *Plant Protection* 3:61-67.

OKONYA, J.S.; MAASS, B.L. 2014. Potential of cowpea variety mixtures to increase yield stability in subsistence agriculture: preliminary results. *International Journal of Agronomy*, 7p.

OLIVEIRA, C.M.G. de; MONTEIRO, A.R.; BLOK, V.C. 2011. Morphological and molecular diagnostics for plant-parasitic nematodes: working together to get the identification done. *Tropical Plant Pathology* 36(2):65-76.

OLIVEIRA, E.; MATTAR, E.P.L.; ARAÚJO, M.L. A.; JESUS, J.C.S.; NAGY, A.C.G.; SANTOS, V.B.S. 2015. Descrição de cultivares locais de feijão-caupi coletados na microrregião Cruzeiro do Sul, Acre, Brasil. *Acta Amazônica* 45(3):243-254.

OLOWE, T. 2007. Reaction of cowpea genotypes to the root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Mediterrânea* 35:177-182.

OOSTENBRINK, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. *Mendelingen Landbouwhogeschool Wageningen* 66:1-46.

OSEI, K.; FENING, J.O.; GOWEN, S.R. 2019. The potential of four non traditional legumes in suppressing the population of nematodes in two Ghanaian soils. *African Journal of Soil Science* 7(3): 1-6.

PETRILLO, M.D.; MATTHEWS, W.C.; ROBERTS, P.A. 2006. Dynamics of *Meloidogyne incognita* virulence to resistance genes Rk and  $Rk^2$  in cowpea. *Journal of Nematology* 38(1):90-96.

PETRILLO, M.D.; ROBERTS, P.A. 2005. Isofemale line analysis of *Meloidogyne incognita* virulence to cowpea resistance gene Rk. *Journal of Nematology* 37(4):448-456.

PHAN, N.T.; DE WAELE, D.; LORIEUX, M.; XIONG, L.; BELLAFFIORE, S. 2018. A hypersensitivity-like response to *Meloidogyne graminicola* in rice (*Oryza sativa*). *Nematology* 108(4):521-528.

PLOEG, A.T.; MARIS, P.C. 1999. Effects of temperature on the duration of the life cycle of a *Meloidogyne incognita* population. *Nematology* 1(4): 389-393.

RABELLO, L.K.C. 2010. Quantificação de danos e perdas causados por *Meloidogyne javanica* em alface (*Lactuca sativa* L.). Universidade Federal do Espírito Santo, 51p.

REYNOLDS, A.M.; DUTTA, T.K.; CURTIS, R.H.C.; POWERS, S.J.; GAUR, H.S.; KERRY, B.R. 2011. Chemotaxis can take plant-parasitic nematodes to the source of a chemo-attractant via the shortest possible routes. *Journal of the Royal Society Interface* 8(57):568-577.

RIGGS, R.D.; SCHMITT, D.P. 1987. Soybean cyst nematode. *In*: 4<sup>th</sup> World soybean research conference, Buenos Aires. Proceedings. Buenos Aires: Asociación Argentina de la Soja. p.1448-1453.

RITZINGER, C.H.S.P; FANCELLI, M. 2006. Manejo integrado de nematóides na cultura da bananeira. *Revista Brasileira de Fruticultura* 28(2):331-338.

ROBERTS, P.A.; MATTHEWS, W.C. 1995. Virulence in *Meloidogyne* spp. to resistance in cowpea. *Nematologica* 41(3):336.

ROBERTS, P.A.; MATTHEWS, W.C.; EHLERS, J.D. 1996. New resistance to virulent root-knot nematodes linked to the Rk locus of cowpea. *Crop Science* 36(4):889-894.

ROBERTS, P.A.; MATTHEWS, W.C.; EHLERS, J.D.; HELMS, D. 2008. Genetic determinants of differential resistance to root-knot nematode reproduction and galling in lima bean. *Crop Science* 48:553-61.

ROCHA, M.M.; SILVA, K.J.D.; MENEZES J.; JOSE, A.N. de. 2017 Cultivo de feijão-caupi: importância econômica. Embrapa: Sistema de produção. Piauí, p. 1-6.

ROSSO, M.N.; HUSSEY, R.S.; DAVIS, E.L.; SMANT, G.; BAUM, T.J.; ABAD, P.; MITCHUM, M.G. 2011. Nematode effectors protein: targets and functions in plant parasitism. *In: MARTIN, F.; KAMOUN, S. (Eds). Effectors in plant-microbe interactions. Wiley-Blackwell, New Jersey. p. 327–354.*

ROUPPE VAN DER VOORT, J.N.A.M.; JANSSEN, G.J.W.; OVERMARS, H.; VAN ZANDVOORT, P.M.; VAN NOREL, A.; SCHOLTEN, E.; JANSSEN, R.; BAKKER, J. 1999. Development of a PCR-based selection assay for root-knot nematode resistance (Rmc1) by a comparative analysis of the *Solanum bulbocastanum* and *S. tuberosum* genome. *Euphytica* 106:187–195.

ROZE, E.; HANSE, B.; MITREVA, M.; VANHOLME, B.; BAKKER, J.; SMANT, G. 2008. Mining the secretome of the root knot nematode *Meloidogyne chitwoodi* for candidate parasitism genes. *Molecular Plant Pathology* 9(1):1-10.

SANTOS, J.R.P.; NDEVE, A.D.; HUYNH, B.L.; MATTHEWS, W.C.; ROBERTS, P.A. 2018. QTL mapping and transcriptome analysis of cowpea reveals candidate genes for root-knot nematode resistance. *PloS One* 13(1): e0189185.

SEID, A.; FININSA, C.; MEKETE, T.; DECRAEMER, W.; WESEMAEL W.M.L. 2015. Tomato (*Solanum lycopersicum*) and root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) – a century-old battle. *Nematology* 17:995-1009.

SIENGCHIN, K.; RUANPANUN1, P.; SOMTA, P. 2020. Damage potential of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita* Chitwood) population density on plant growth parameters related to plant age of mung bean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *Journal of the International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences* 26(1): 111-122.

SILVA, G.S.; ATHAYDE SOBRINHO, C. 2017. Nematoides. *In: CARDOSO, M.J.; BASTOS, E.A.; ANDRADE J.; ADERSON, S. de.; ATHAYDE SOBRINHO, C. (Eds). Feijão-caupi: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília: Embrapa. 250 p.*

SILVA, J.F.V.; GARCIA, A.; DIAS, W.P.; SILVA, E.A. 1997. Nematóide de cisto da soja. *Embrapa soja*, 7p.

SILVA, K.J.D.; ROCHA, M.M.; MENEZES JÚNIOR, J.A.N. 2016. Capítulo 3. Principais doenças do feijão-caupi no Brasil. 2016. *In: BASTOS, E.A. (Ed). A cultura do feijão-caupi no Brasil. Teresina: Embrapa Meio Norte. p. 44-67.*

SILVA, P.H.S. de. 2017. Pragas da cultura do feijão-caupi. In: BASTOS, E.A. (Coord.) A cultura do feijão-caupi no Brasil. Teresina: Embrapa Meio-Norte. p. 13 – 43.

SINGH A.U.; PRASAD, D. 2016. Integrated nematode management of *Rotylenchulus reniformis* on cowpea and chickpea crops. Annals of Plant Protection Sciences. New Delhi. p. 174-177.

SIQUEIRA, K.M.S.; INOMOTO, M.M. 2008. Pathogenicity and reproductive fitness of *Pratylenchus brachyurus* on cowpea. Nematology 10:495-500.

SONG, Z.Q.; CHENG, F.X.; ZHANG, D.Y.; LIU, Y.; CHEN, X.W. 2017. First report of *Meloidogyne javanica* infecting hemp (*Cannabis sativa*) in China. Plant Disease 101(5):842.

SOUSA, I.S.; FREIRE FILHO, F.R.; LOPES, A.C.A.; ROCHA, M.M.; RIBEIRO, V.Q.; GOMES, R.L.F.; RÊGO, M.S.C. 2006. Determinação da taxa de fecundação cruzada em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Embrapa 4p.

SOUZA, D.S.L.; JUNIOR, D.A.S.; GROSSI-DE-SÁ, M.; ROCHA, T.L.; FRAGOSO, R.R.; BARBOSA, A.E.A.D.; OLIVEIRA, G.R.; NAKASUB, E.Y.T.; SOUSA, B.A.; PIRES, N.F.; DUSI, D.M.A.; CARNEIRO, R.M.D.G.; ROMANO, E.; ALMEIDA-ENGLER, J.; ENGLER, G.; MARTINS-DE-SÁ, C.; GROSSI-DE-SÁ, M.F. 2011. Ectopic expression of a *Meloidogyne incognita* dorsal gland protein in tobacco accelerates the formation of the nematode feeding site. Plant Science 180(2):276–282.

SPIEGEL, Y.; McCLURE, M.A. 1995. The surface coat of plant-parasitic nematodes—chemical composition, origin, and biological role—a review. Journal of Nematology 27:127–134.

STARR L.J.; COOK, R.; BRIDGE, J. 2002. Plant resistance to parasitic nematodes. CABI Bioscience, Surrey. 272p.

TANIMOLA, A.A.; FAWOLE, B.; CLAUDIUS-COLE, A.O. 2017. Comparative profitability of managing *Meloidogyne incognita* on cowpea (*Vigna unguiculata*) using carbofuran and pulverized aloe keayi leaves. Tropicultura 35(2):137-145.

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

TEÓFILO, E.M.; BERTINI, C.H.C.M.; FREIRE FILHO, F.R.; DIAS, F.T.C.; ALMEIDA, W.S. 2013. Coleção de germoplasma de feijão-caupi da Escola de Agronomia da Universidade Federal do Ceará. Embrapa Meio-Norte. 5p.

TIHOHOD, D. 1997. Guia prático para a identificação de fitonematóides. Funep, Jaboticabal. 246p.

TIMKO, M.P.; EHLERS, J.D.; ROBERTS, A. 2007. Cowpea: Genome mapping and molecular breeding in plants 3:49-67.

TIMKO, M.P.; SINGH, B.B. 2008. Cowpea, a multifunctional legume. *In*: MOORE, P.H.; MING, R. (Eds.), Genomics of Tropical Crop Plants. Springer Nature, Londres. p. 227-258.

TORRES JÚNIOR, G.A. 2018. Avaliação de variedades de feijão-caupi ao parasitismo de *Meloidogyne incognita*. Dissertação. Universidade Federal de Campina Grande, curso de Agronomia. 66p.

TRANTAPHYLLOU, A.C. 1973. Environmental sex differentiation of nematodes in relation to pest management. *Annual Review of Phytopathology* 11:441–462.

TRUDGILL, D.L.; BLOK, V.C. 2001. Apomictic polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 39:53–77.

VEIGA, R.F.A.; BARBOSA, W.; TOMBOLATO, A.F.C.; VALLS, J.F.M. 2012. Bancos de Germoplasma: importância e organização. 2012. *In*: COSTA, A.M.; SPEHAR, C.R.; SERENO, J.R.B. Conservação de Recursos Genéticos no Brasil. Brasília, DF. Embrapa, 672p.

VIEIRA, P.; DANCHIN, E.G.J.; NEVEU, C.; CROZAT, C.; JAUBERT, S.; HUSSEY, R.S.; ENGLER, G.; ABAD, P.; ENGLER, J.A.; SERENO, P.C.; ROSSO, M.N. 2011. The plant apoplast is an important recipient compartment for nematode secreted proteins. *Journal of Experimental Botany* 62:1241–1253.

VILLETH, G.R.C.; CARMO, L.S.T.; SILVA, L.P.; FONTES, W.; GRYNBERG, P.; SARAIVA, M.; BRASILEIRO, A.C.M.; CARNEIRO, R.M.D.; OLIVEIRA, J.T.A.; GROSSI M.F.; MEHTA, A. 2015. Cowpea-*Meloidogyne incognita* interaction: root proteomic analysis during early stages of nematode infection. *Proteomics* 15(10):1746–1759.

VOS, P.; SIMONS, G.; JESSE, T.; WIJBRANDI, J.; HEINEN, L.; HOGERS, R.; FRIJTERS, A.; GROENENDIJK, J.; DIERGAARDE, P.; REIJANS, M.; FIERENS-ONSTENK, J.; BOTH, M.; PELEMAN, J.; LIHARSKA1, T.; HONTELEZ, J.; ZABEAU, M. 1998. The tomato Mi-1 gene confers resistance to both root-knot nematodes and potato aphids. *Nature Biotechnology* 16:1365–1369.

WANG, G.; MCGIFFEN, M.E.; EHLERS, J.D.; MARCHI, E.C.S. 2017. Competitive ability of cowpea genotypes with different growth habit. *Weed Science* 54(4): 775-778.

WETZEL, M.M.V.S.; FREIRE, M.S.; FAIAD, M.G.R.; FREIRE, A.B. 2005. Recursos genéticos: coleção ativa e de base. *In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V.Q. (Eds). Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Teresina: Embrapa Meio-Norte p. 29-92.*

WILLIAMSON, V.M.; KUMAR, A. 2006. Nematode resistance in plants: the battle underground. *Trends in Genetics* 22(7):396-403.

WILLIAMSON, V.M.; ROBERTS, P.A. 2009. Mechanism and Genetics of resistance. *In: PERRY, R.N.; MOENS, M.; STARR, J. Root-knot nematodes. CAB International, London. p. 301-326.*

YAGHOUBI, J. YATES, J.L.; WILLIAMSON, V.M. 2005. Fine mapping of the nematode resistance gene Mi-3 in *Solanum peruvianum* and construction of a *S. lycopersicum* DNA contig spanning the locus. *Molecular Genetics and Genomics* 274:60–69.