



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOPATOLOGIA

Reação de genótipos de feijão-caupi resistentes ao nematoide-das-galhas

ÉLLEN GRIZA WICKERT

Brasília

2022

Éllen Griza Wickert

Reação de genótipos de feijão-caupi 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

BRASÍLIA
DISTRITO FEDERAL - BRASIL
2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Wickert, Éllen Griza.

Reação de genótipos de feijão-caupi resistentes ao nematoide-das-galhas/Éllen Griza Wickert

Brasília, 2022

65p

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

Dedico este trabalho aos meus pais Olavo e Ivete, a minha irmã Anna, e a todos que contribuíram nessa caminhada

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelo dom da vida e por sempre me dar coragem nessa caminhada.

À minha família amada, que sempre acreditou na minha capacidade, em especial, a minha mãe Ivete Griza, e ao meu pai Olavo João Wickert, que nunca mediram esforços para me conceder a melhor educação que eu poderia receber, e que hoje, mesmo longe, conseguem me transmitir forças. E a minha irmã Anna Griza Wickert, minha parceira em todos os cantos que andamos nesse Brasil. Agradeço por cada roda de mate onde compartilhamos nossas felicidades e angústias. Amo vocês!

Ao Fabian por toda motivação, oração e por ser minha companhia nos momentos difíceis e alegres. Obrigada por segurar minha mão e me ajudar a focar neste trabalho!

As minhas amigas Ana Clara Barbosa, Isabela Martins, Karine Taveira, Leticia Lucas, Isabela Martins, Rayane Rosback e Veridiane Gomes, obrigada por sempre me convidarem a dar o melhor de mim.

Aos meus colegas Amanda Botelho, Caterynne Kauffmann, Gustavo Peixoto e Thais França e às minhas alunas de Pibic Ana Clara Botafogo e Laíde Santos que me auxiliaram nas atividades práticas e nos conselhos dados, participando ativamente na construção desse trabalho, mesmo em épocas em que o isolamento social era o indicado.

À toda equipe de professores e funcionários da Universidade de Brasília e do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, obrigado a todo conhecimento transmitido que contribuíram para a minha formação, em especial ao meu orientador Juvenil Cares, que não mediu esforços para a conclusão desse trabalho. Jansen Santos agradeço a confiança em mim depositada para prosseguir com seu projeto. Obrigado pelos ensinamentos!

À equipe de pesquisa da Fazenda Matão e os supervisores Henrique Cenci, Rafael Nunes e Túlio Gonçalo por me desafiar a fazer ciência e que ela chegue os produtores todos os dias.

Aos membros desta banca, Dr. Cleber Furlanetto, Dr. Kael Damasceno e Dr. Dilson Costa onde os questionamentos e contribuições irão elevar o nível desse estudo.

À Embrapa Meio-Norte por disponibilizar as sementes para o desenvolvimento dessa pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pelo apoio financeiro através da bolsa.

Muitíssimo obrigada a todos!

Trabalho realizado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação do Juvenil Enrique Cares, com apoio Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Reação de genótipos de feijão-caupi resistentes ao nematoide-das-galhas

Éllen Griza Wickert

DISSERTAÇÃO APROVADA em ___/___/___ por:

Dr. Kaesel Jackson Damasceno e Silva
Examinador Externo

Prof. Dr. Cleber Furlanetto
Examinador

Prof. Dr. Juvenil Enrique Cares
Orientador (Presidente)

BRASÍLIA – DISTRITO FEDERAL

BRASIL

2022

Sumário

LISTA DE TABELAS	i
LISTA DE FIGURAS.....	ii
RESUMO GERAL	iii
GENERAL ABSTRACT	iv
1. INTRODUÇÃO.....	5
2. OBJETIVOS	7
2.1. Objetivo geral.....	7
2.2. Objetivos específicos	7
3. REVISÃO DE LITERATURA	8
3.1. Nematoides fitoparasitas	8
3.2. Nematoides das galhas	10
3.3. Controle de nematoides.....	14
3.4. Cultura do feijão-caupi	18
3.5. Resistência em feijão-caupi	21
4. MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1. Local e condução experimental	27
4.2. Eletroforese de isoenzimas para a confirmação de espécies de <i>Meloidogyne</i> 27	
4.3. Preparo do inóculo a partir de ovos presentes nas raízes de tomateiro.	28
4.4. Inoculação e avaliação da reação dos genótipos de feijão-caupi a <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>M. javanica</i>	28
4.5. Análise estatística.....	34
5. RESULTADOS	36
5.1. Reação de feijão-caupi a <i>Meloidogyne javanica</i>	36
5.1.1. Índice de galhas (IG)	36
5.1.2. População final (PF).....	36
5.1.3. Massa fresca de raiz	37
5.1.4. Nematoides por grama de raiz (NGR)	37
5.1.5. Fator de reprodução (FR)	37
5.2. Seleção para resistência a <i>Meloidogyne incognita</i>	41
5.2.1. Índice de galhas (IG)	41
5.2.2. População final (PF).....	41
5.2.3. Massa fresca de raiz (MFR)	41
5.2.4. Nematoides por grama de raiz (NGR)	42
5.2.5. Fator de reprodução (FR)	42
5.3. Correlação dos parâmetros avaliados.....	46
6. DISCUSSÃO	49
7. CONCLUSÕES	53
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Produtos químicos registrados no MAPA para controle de <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>M. javanica</i> e suas culturas.....	14
Tabela 2. Produtos microbiológicos registrados para o controle de <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>M. javanica</i>	16
Tabela 3. Linhagens de feijão-caupi provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Meio-Norte e genótipos usados como controle.....	29
Tabela 4. Genótipos de feijão-caupi avaliados e a reação para <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>M. javanica</i>	30
Tabela 5. Datas de inoculação dos experimentos de reação de feijão-caupi a <i>Meloidogyne</i> spp. em casa de vegetação, na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília.....	31
Tabela 6. Quadrado médio dos resíduos dos experimentos de <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>M. javanica</i> em duas épocas distintas.....	35
Tabela 7. Reação de genótipos de feijão-caupi inoculados com 12000 ovos de <i>Meloidogyne javanica</i> , tendo como parâmetros o índice de galhas (IG), população final (PF), massa fresca de raiz (MFR), nematoides por grama de raiz (NGR) e fator de reprodução (FR) avaliados em duas épocas distintas, Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2022	39
Tabela 8. Reação de genótipos de feijão-caupi inoculados com 12000 ovos de <i>Meloidogyne javanica</i> , tendo como parâmetros o índice de galhas (IG), população final (PF), massa fresca de raiz (MFR), nematoides por grama de raiz (NGR) e fator de reprodução (FR) avaliados em conjunto em esquema fatorial(Exp 1 e Exp 2), Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2022	40
Tabela 9 Reação de genótipos de feijão-caupi inoculados com 12000 ovos de <i>Meloidogyne incognita</i> , tendo como parâmetros, o índice de galhas (IG), população final (PF), massa fresca de raiz (MFR), nematoides por grama de raiz (NGR) e fator de reprodução (FR), avaliados em duas épocas distintas, Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2022	44
Tabela 10. Reação de genótipos de feijão-caupi inoculados com 12000 ovos de <i>Meloidogyne incognita</i> , tendo como parâmetros, o índice de galhas (IG), população final (PF), massa fresca de raiz (MFR), nematoides por grama de raiz (NGR), fator de reprodução (FR) e avaliados em conjunto em esquema fatorial (Exp 1 e Exp 2), Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2022	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Temperaturas de condução dos experimentos de reação de feijão-caupi a <i>Meloidogyne</i> spp. em casa de vegetação, na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília.....	32
Figura 2. Escala de notas de Bridge & Page (1980)	33
Figura 3. Gráfico de dispersão dos componentes de avaliação para <i>Meloidogyne javanica</i> : índice de galhas (IG), massa fresca de raiz (MFR) e nematoídes por grama de raiz (NGR) em comparação com o fator de reprodução (FR).	46
Figura 4. Gráfico de dispersão dos componentes de avaliação para <i>Meloidogyne incognita</i> : índice de galhas (IG), massa fresca de raiz (MFR) e nematoídes por grama de raiz (NGR) em comparação com o fator de reprodução (FR).	47
Figura 5. Coeficiente de correlação entre os componentes (IG, MFR e NGR) e fator de reprodução entre os patógenos <i>Meloidogyne javanica</i> e <i>M. incognita</i>	47

RESUMO GERAL

WICKERT, Éllen Griza. Reação de genótipos de feijão-caupi resistentes ao nematoide-das-galhas. 2022. 65p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, DF.

O nematoide-das-galhas (*M. incognita* e *M. javanica*) são patógenos agressivos que impactam o sistema radicular das plantas sucedendo em perdas expressivas de produtividade. A redução das perdas de rendimento nas culturas é baseada em diferentes métodos, onde rotação de culturas e resistência genética se destacam por sua eficiência e baixo custo. Membro da família Fabaceae, o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) é uma leguminosa importante para compor o sistema de rotação de culturas, em decorrência das suas características de adaptação a zonas quentes, com baixa pluviometria, precocidade e rusticidade, além de possuir alto valor proteico e energético e ser componente de geração de renda. Os genes *Rk* e *Rk²*, presentes em algumas cultivares, foram descritos por conferirem graus de resistência ao feijão-caupi ao nematoide-das-galhas, porém algumas populações do patógeno presente em áreas agrícolas são virulentas a cultivares, tornando-se necessário a busca por outras fontes de resistência. O objetivo do presente estudo foi selecionar fontes de resistência a *M. incognita* e *M. javanica* e caracterizar alguns dos genótipos brasileiros quanto a sua resistência. Para isso, foram utilizadas 20 linhagens e 6 cultivares controle de feijão-caupi na avaliação da resistência a *M. incognita* e 17 linhagens e 6 cultivares controle para *M. javanica* onde cada planta foi inoculada com 12.000 ovos e juvenis (J2) em delineamento inteiramente casualizado com 6 repetições e duas repetições no tempo. Os genótipos foram avaliados 60 dias após a inoculação utilizando os parâmetros: índice de galhas (IG), massa fresca de raiz (MFR), população final de ovos e J2 (PF), total de ovos e J2/grama de raiz (NGR) e o fator de reprodução (FR). O genótipo MNC-06-895-1 apresentou comportamento de resistência a *M. incognita* e a *M. javanica*, o genótipo MNC-06-895-1 também apresentou resposta de resistência para *M. incognita*, os demais genótipos apresentaram reação de suscetibilidade para ambas as espécies. Como resultado da expansão do uso do feijão-caupi e a necessidade de posicionar tecnologias de resistência genética ao nematoide das galhas, os resultados deste estudo contribuem para os programas de melhoramento que buscam novas fontes de resistência ao patógeno, bem como indicou a necessidade de mais estudos com outras linhagens de feijão-caupi e outras espécies de *Meloidogyne*.

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

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

GENERAL ABSTRACT

WICKERT, Éllen Griza. Reaction of cowpea genotypes resistant to the root-knot nematode. 2022. 65p. Dissertation (Master in Plant Pathology) - Universidade de Brasilia, Brasilia, DF, Brazil

The root-knot nematodes (*M. incognita* and *M. javanica*) are aggressive pathogens that impact the root system of plants, resulting in significant productivity losses. Reducing yield losses in crops is based on different methods, where crop rotation and genetic resistance stand out for their efficiency and low cost. A member of the Fabaceae family, cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) is an important tool to compose the crop rotation system, due to its characteristics of adaptation to hot zones, with low rainfall and rusticity, in addition to having high protein and energy value and to be a component of income generation. The genes Rk and Rk², present in some cultivars, were accounted for conferring degrees of resistance to cowpea to the root-knot nematode, but some populations of the pathogen present in agricultural areas are virulent to specific resistance genes, making it necessary the search for other sources of resistance. The aim of the present study was to select sources of resistance to *M. incognita* and *M. javanica* and to characterize some of the Brazilian genotypes regarding their resistance. For this, 20 lines and 6 control genotypes of cowpea were used in the evaluation of resistance to *M. incognita* and 17 lines and 6 control genotypes for *M. javanica* where each plant was inoculated with 12,000 eggs and juveniles (J2) in an entirely randomized design with 6 replicates and 2 repetitions in time. The genotypes were evaluated 60 days after inoculation using the parameters: gall index (GI), root fresh mass (MFR), final egg and J2 population (PF), total eggs and J2/gram of root (NGR) and the reproduction factor (FR). Fradinho MNC-06-895-1 genotype showed resistance to *M. incognita* and *M. javanica*, Fradinho MNC-06-895-1 genotype also showed resistance to *M. incognita*, the other genotypes showed a reaction of susceptibility for both species. As a result of the expansion of the use of cowpea, the increase in areas infested with the pathogen and the need to position genetic resistance technologies, the results of this study contribute to breeding programs that seek new sources of resistance to the root-knot nematode, as well as indicated the need for further studies with other lines of cowpea and other *Meloidogyne* species.

Keywords: resistance, screening, virulence, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*.

Advisor – Prof. Juvenil Enrique Cares – University of Brasilia.

1. INTRODUÇÃO

A presença de doenças e pragas em áreas agrícolas comprometem a produtividade da cultura implantada, e quando há dificuldades no diagnóstico, essas perdas tornam-se mais difíceis de serem estimadas (Williamson & Kumar, 2006). Os nematoides do gênero *Meloidogyne*, conhecidos popularmente como nematoide-das-galhas, estão distribuídos em todo território mundial. Possuem hábito alimentar endoparasita sedentário e, por essa razão necessita da planta biologicamente ativa causando amarelecimento e nanismo culminando em percas produtivas (Assoumana *et al.*, 2017).

O controle efetivo se inicia com o correto diagnóstico por meio de taxonomia integrativa de identificação (Oliveira *et al.*, 2011), posteriormente, os métodos de controle de controle efetivo dos nematoides poderão ser corretamente posicionados (Belan *et al.*, 2011). A utilização de produtos químicos, biológicos, rotação de culturas associados ao uso de cultivares resistentes são as principais formas de controle do patógeno (Abd-El-Khair *et al.*, 2019; Osei *et al.*, 2019; Fontes & Valadares-Inglis, 2020).

A utilização de cultivares resistentes é essencial para o controle efetivo e economicamente viável de patógenos do solo (Molinari, 2010), além de ser uma tecnologia facilmente empregada para produtores rurais com diferentes níveis tecnológicos.

A inserção da cultura do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) tem se mostrado viável para reduzir o inóculo, se utilizadas variedades com resistência a nematoide-das-galhas, e compor o manejo rotacional de culturas (Freire Filho *et al.*, 2001; Siqueira & Inomoto, 2008). O feijão-caupi, originário do continente africano, foi introduzido pelos portugueses no período de colonização, se espalhou pelo território brasileiro devido a sua rusticidade e baixa necessidade de água, além do período de

cocção curto e altos teores proteicos e energéticos (Freire Filho *et al.*, 2011a; Abreu *et al.*, 2019).

No mundo, aproximadamente 8,9 milhões de toneladas de feijão-caupi foram produzidas, as maiores produtividades encontram-se no continente africano, Nigéria liderou com produção de 3,647 milhões de toneladas no ano de 2020 (FAO, 2020). No Brasil, foram produzidas pouco mais de 600 mil toneladas do grão, em uma área superior a 1,2 milhões de hectares (CONAB, 2022). O feijão-caupi tem seu plantio dividido em três safras agrícolas, a depender da disponibilidade de área, regime pluviométrico e fotoperíodo.

A utilização de cultivares resistentes aos nematoides-das-galhas, tecnologia desenvolvida em programas de melhoramento genético distribuídos por todo o mundo, tem-se mostrado eficaz como método de redução de populações e danos (Mukhtar *et al.*, 2014; Bernard *et al.*, 2017). Os nematoides iniciam sua infecção por meio de proteínas secretadas, desta forma, geram eventos de expressão gênica na planta, ativando os genes de resistência responsáveis por impedir que os mecanismos de ataque do patógeno sejam eficientes, evitando sua reprodução ou causando sua morte (Trudgill & Blok, 2001; Das *et al.*, 2008). O alelo dominante descoberto por Fery & Dukes (1980) denominado *Rk* em feijão-caupi conferia resistência ampla na supressão das espécies *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 e *M. hapla* Chitwood, 1949, posteriormente a essa descoberta, outros genes associados à resistência foram encontrados.

Ligados ao loco *Rk*, o gene *Rk²* (Roberts *et al.*, 1996) confere resistência adicional quando combinado ao gene *Rk*. Outras fontes de resistência relacionadas a locos de características quantitativas (QTL), encontrados por Huynh *et al.* (2015) e Santos *et al.*

(2018) nomeados de QRK – vu11.1 e QRK – vu9.1, mostraram efeito na diminuição dos índices de galhas e produção de ovos do nematoide-das-galhas.

A piramidação de genes de resistência nas cultivares é uma estratégia para incrementar a resistência a diferentes populações de *M. incognita* e *M. javanica* (Ehlers *et al.*, 2000) tornando as plantas responsivas às diversas populações de nematoides distribuídas pelo mundo, inclusive as virulentas ao gene *Rk* (Kozlowski *et al.*, 2020). Portanto, a busca e identificação de novos genótipos resistentes é de suma importância para a ampliação da base genética para melhoramento e introgessão de genes.

2. OBJETIVOS

2.1.Objetivo geral

Selecionar linhagens de feijão-caupi com fontes de resistência ao nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.).

2.2.Objetivos específicos

1. Selecionar linhagens de feijão-caupi resistentes à espécie de *Meloidogyne incognita*.
2. Selecionar linhagens de feijão-caupi resistentes à espécie *Meloidogyne javanica*.
3. Caracterizar genótipos de feijão-caupi brasileiros quanto ao nível de resistência a *M. incognita* e a *M. javanica*.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1.Nematoides fitoparasitas

Os nematoides são seres pertencentes ao reino Animalia e ao filo Nematoda, filo que compreende o maior número de animais vivos, onde a maioria das espécies são enquadradas como nematoides de vida livre, que possuem características morfológicas e fisiológicas que os diferem dos parasitas. Os nematoides parasitas podem causar doenças de grande importância sanitária e econômica no meio animal e vegetal (Spiegel & McClure, 1995; Williamson & Kumar, 2006).

Segundo Spiegel & McClure (1995) o corpo dos nematoides é revestido por várias camadas de cutícula que evitam o contato dos órgãos internos com substâncias externas indesejáveis e interação com outros organismos durante suas fases de vida. A cutícula é formada pelos compostos proteicos secretados pela hipoderme, e essa é separada das camadas cuticulares por uma membrana. As camadas cuticulares têm características químicas e morfológicas distintas, variando em número e composição dependendo da espécie de nematoide e estádio de desenvolvimento do mesmo. A camada mais externa do corpo é composta por glicoproteínas, cuja estrutura reconhece carboidratos, possibilitando que os nematoides se adaptem aos diversos ambientes de solo, e consigam estabelecer relações com a planta hospedeira, impedindo sua morte prematura.

As relações patógeno-hospedeiro podem assumir diferentes conformações, em ambientes onde as condições são favoráveis ao patógeno, nas espécies partenogenéticas, geralmente juvenis, tornam-se fêmeas. No entanto, condições adversas, como falta de alimento e baixa concentração de sacarose, alta densidade de inóculo e genes de resistência, a produção de machos geralmente é beneficiada

(Davide & Triantaphyllou, 1967; Triantaphyllou, 1973; Moura et al., 1993; Williamson & Kumar, 2006).

Organismos biotróficos, em geral, possuem impedimentos para reconhecer o hospedeiro e conseguir remover com sucesso os nutrientes (Perry & Gaur, 1996; Williamson & Kumar, 2006), sem induzir resposta de resistência nas hospedeiras. Os nematoides fitoparasitas evoluíram e se adaptaram ao meio para que fizessem com excelência o reconhecimento da hospedeira (Trudgill & Blok, 2001; Williamson & Kumar, 2006). Por meio da quimiotaxia, aprimoraram seus receptores e detecção de compostos vegetais para que cada vez localizassem suas hospedeiras pelas rotas mais curtas e com menos gastos energéticos (Reynolds et al., 2011).

A composição corporal complexa, ampla gama de hospedeiros (Santos, 2016; Mizobutsi et al., 2012), relação nematoide-planta, hábitos de crescimento e local de desenvolvimento fazem com que esses parasitas de plantas sejam difíceis de serem controlados (Trudgill & Blok, 2001). Entre os nematoides que mais causam problemas incluem os dos gêneros *Meloidogyne* Göldi, 1887 (nematoide das galhas), *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (nematoide-das-lesões-radiculares, e as espécies *Rotylenchus reniformis* Linford & Oliveira, 1940 (nematoide-reniforme) e *Heterodera glycines* Ichnohe, 1952 (nematoide-de-cisto da soja) (Athyde Sobrinho, 2016).

O resultado da infecção por nematoides parasitas causa perdas de mais de US\$ 75 bilhões por ano, onde o mais prejudicial é o nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) (Sasser & Freckman, 1987; Williamson & Kumar, 2006), valor que pode estar subestimado devido às dificuldades no diagnóstico.

3.2.Nematoides das galhas

Encontrado em países com diferentes climas e ambientes (Trudgill & Blok, 2001), os nematoides do gênero *Meloidogyne* Göldi, 1887, conhecidos como nematoide-das-galhas, pertencem à classe Chromadorea, ordem Rhabditida, subordem Tylenchina, infraordem Tylenchomorpha, superfamília Tylenchoidea e família Meloidognidae (De Ley & Blaxter, 2002, 2004; Hunt & Handoo, 2009).

Esse gênero abriga organismos endoparasitas sedentários obrigatórios, onde seus indivíduos adultos apresentam dimorfismo sexual, as fêmeas apresentam formato periforme de aspecto leitoso com comprimento aproximado de 0,7 mm e largura de 0,4mm, os machos, por sua vez, têm formato vermiforme e possuem comprimento de aproximadamente 1,5 mm (Ferraz & Brown, 2016; Ferraz, 2018).

Ocorrendo infecção da planta, os ovos começam a ser produzidos pelas fêmeas entre 3 a 6 semanas a depender da espécie e condições ambientais, os quais são depositados em matriz gelatinosa para proteção (Williamson & Kumar, 2006; Adam, 2008). Dentro do ovo se torna juvenil de primeiro estádio (J1), assim que atingem a maturidade, passam pela primeira ecdise, se transformando em juvenil de segundo estádio (J2), também conhecido como juvenil móvel e infectivo, eclode do ovo e migra para o solo, e rompe a barreira física da planta com o uso do estilete (Roze *et al.*, 2008) adentrando até o cilindro vascular. Nesse ambiente, induz a formação de células gigantes, poliploides e multinucleadas próximas à sua região labial. Com o auxílio de secreções proteicas (celulase, peptidases, proteinases, xylanases, pectato-liase e beta-1,4-endoglucanases) (Bellafiore *et al.*, 2008), produzidas pelas glândulas esofagianas, estabelecendo, assim, seu sítio de alimentação e tornando-se imóvel (Vos *et al.*, 1998; Trudgill & Blok, 2001; Adam *et al.*, 2008; Roze *et al.*, 2008; Menezes *et al.*, 2019). Após se tornarem sedentário passa por mais três trocas de cutícula e se torna adulto, a

fêmea continua se alimentando e o macho sai da raiz e migra para o solo, por não se alimentar, esse ciclo acontece em aproximadamente 29 dias (Trudgill & Blok, 2001).

A indução da multiplicação das células parenquimáticas presentes no cilindro vascular e no córtex geram o sintoma visível e característico do patógeno, as galhas, seu sistema radicular é prejudicado, evoluindo para sintomas secundários como redução de nodulação, murcha e crescimento atrofiado de parte aérea e radicular. A redução nos teores de cobre, nitrogênio, fósforo levam a necroses nas raízes, folhas amareladas, e progridem até a morte das plantas (Vos *et al.*, 1998; Williamson & Kumar, 2006; Adam *et al.*, 2008; Abouleid *et al.*, 2015; Abadiyah *et al.*, 2016; Faverry *et al.*, 2016 Assoumana *et al.*, 2017; Izuogu *et al.*, 2019), sintomas esses que ocorrem, geralmente, em reboleiras.

A reprodução do tipo partenogenética está vinculada aos ciclos curtos com altas taxas reprodutivas, resultando cada vez mais em danos durante um cultivo, além disso esse tipo de reprodução conserva o genoma e os genes responsáveis pela ampla gama de hospedeiros, pois dificultam a coevolução com qualquer planta hospedeira (Trudgill & Blok, 2001). No entanto, essa reprodução reduz sua diversidade e evolução, além de acumular mutações deletérias. Geralmente, esses organismos ausentes de coluna vertebral e partenogenéticos atuam mais como pragas agrícolas, por esse ambiente ser mais estável e uniforme (Hoffmann *et al.*, 2008).

As altas taxas reprodutivas também estão vinculadas à temperatura e obedecem a uma equação linear, temperaturas abaixo de 16,2°C e superiores a 35,4 °C afetam negativamente seu desenvolvimento (Ploeg & Maris, 1999). Aos 21 dias nas temperaturas entre 26-28°C as fêmeas completam sua maturidade efetiva e iniciam a geração de progêneres (Das *et al.*, 2008).

Segundo Bernard *et al.* (2017), as interações entre hospedeira e patógeno são sempre complexas, e envolve resposta de defesa das plantas aos mecanismos de ataque dos patógenos. A defesa da planta é realizada em duas frentes, a primeira dá-se início na presença de alguma estrutura do patógeno (toxinas, carboidratos, proteínas), chamada de PAMP's (*Pathogen-Associated Molecular Pattern*) que é identificado pela planta, a qual gera uma resposta inata desencadeada por esses traços do patógeno, conhecida como PTI (*PAMP-triggered immunity*). Ao conseguir suprimir essa primeira linha de defesa por meio de moléculas efetoras, o patógeno provoca a suscetibilidade da planta (ETS). Então, a planta reconhece esses efetores e induz uma resposta mais específica e forte, geralmente por meio de uma reação de hipersensibilidade (HR), conhecida como imunidade desencadeada por efetores (ETI), sendo eficiente, impede a instalação do patógeno. Parasitas eficientes, como os do gênero *Meloidogyne*, acabam interferindo na imunidade inata da planta (PAMP's) ao secretarem diferentes efetores, ocasionando a reprogramação da célula vegetal para a geração e formação de células gigantes multinucleadas (Bellafiore *et al.*, 2008).

Aproximadamente 100 espécies de *Meloidogyne* têm a capacidade de infectar mais de 5000 espécies de plantas. Essa grande gama de hospedeiras indica que o parasita suprime a resistência dessas espécies de plantas (Vos *et al.*, 1998; Trudgill & Blok, 2001; Khan *et al.*, 2017). Geralmente organismos biotróficos são específicos e possuem gama de hospedeiras restrita, diferentemente do nematoide das galhas que apresenta uma grande quantidade de espécies vegetais em seu círculo de infecção com severidades distintas conforme hospedeiro, espécie e população de *Meloidogyne* (Khan *et al.*, 2017).

A distribuição mundial dos nematoides causadores de galhas é explicada por serem espécies muito antigas já espalhadas pelo mundo ou devido à evolução recente

e expansão da área agrícola, essa última se torna mais provável devido à variação entre o DNA genômico e o DNA mitocondrial (mtDNA) (Trudgill & Blok, 2001). As espécies de maior importância econômica mundial são *M. incognita* (Kofoide & White, 1919) Chitwood, 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, *M. arenaria* (Neal, 1889) e *M. hapla* Chitwood, 1949 (Vos *et al.*, 1998), a partir do mtDNA foi possível constatar que essas, com exceção de *M. hapla*, derivam de espécies anfimíticas próximas (Trudgill & Blok, 2001).

O nematoide *M. incognita* é considerado o patógeno mais prejudicial das culturas de maior impacto econômico no mundo (Trudgill & Blok, 2001; Abadiyah *et al.*, 2016). Atacando diferentes culturas como alface, batata, cebola, cenoura, tomate e soja (Mitkowski & Abawi, 2003) e frutíferas (Dias-Arieira *et al.*, 2010), além da dificuldade de obtenção de variedades resistentes e de alta produtividade nos cultivos de leguminosas, como o feijão-caupi, torna a presença de *M. incognita* e *M. javanica* ainda mais prejudicial, resultando em campos cada vez mais infestados, alcançando perdas de produtividade de aproximadamente 31% (Adegbite, 2011; Seid *et al.*, 2015).

Na nematologia, para o planejamento de manejo mais eficaz para *Meloidogyne* é necessário a realização precisa da diagnose. A utilização de diferentes abordagens como a identificação morfológica, bioquímica e molecular, compõe a taxonomia integrativa de identificação (Oliveira *et al.*, 2011), forma ideal de diagnose para maior assertividade e eficiência. Os diagnósticos moleculares possuem maior valor agregado e auxiliam na identificação de grupos taxonômicos mais complexos (Oliveira *et al.*, 2011).

3.3. Controle de nematoides

O manejo dos nematoides-das-galhas inclui práticas de controle químico, físico, biológico, cultural e genético (Agrios, 2005).

O controle químico conta com seis grupos químicos contendo dez diferentes ingredientes ativos aprovados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), conforme Tabela 1.

Tabela 1. Produtos químicos registrados no MAPA para controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* e suas culturas.

Grupo químico	Ingrediente ativo	Modo de ação	Culturas
Avermectina	Abamectina	Moduladores de canais de cloro	Algodão, cana de açúcar, cebola, cenoura, feijão, milho, soja
Fluoroalkenyle (-thioether)	Fluensulfona	Desconhecido	Algodão, soja, cana de açúcar, alho, beterraba, cebola, cenoura, melancia, melão, tomate, pimentão
Isotiocianato de metila	Dazomete Matam-sódico	Multi-sítio	Tratamento de solo Batata, cenoura, fumo, tomate
Metilcarbamato de benzofuranila	Benfuracarbe Carbossulfano	Inibidores de acetilcolinesterase	Cana de açúcar Cana de açúcar
Organofosforado	Cadusafós Fostiazato Terbufós	Inibidores de acetilcolinesterase	Cana de açúcar, café, batata, soja, algodão Café, cenoura Café, cana de açúcar
Extrato vegetal ¹	<i>Allium sativum</i>	Multi-sítio	Cana de açúcar, soja, tomate

¹: produto vegetal, enquadra-se nessa tabela em virtude de ser registrado por cultura.

Fonte: Agrofit (modificado), 2022.

A quantidade de produtos e culturas liberadas para aplicação é restrita e a maioria desses produtos não são eficientes e tem altos níveis de toxicidade para o meio ambiente e para aqueles que os manipulam, além disso, o valor dos agrotóxicos e o desenvolvimento de novos nematicidas são parâmetros a serem considerados (Williamson & Kumar, 2006; Bernard *et al.*, 2017; Osei *et al.*, 2019). A partir de 2014, a Instrução Normativa Conjunta nº01 de 2014 (INC-01-2014) definiu as culturas com Suporte Fitossanitário Insuficiente (CSFI) e as separou em grupos semelhantes. Essa

iniciativa tem como objetivo atender as demandas de utilização de ingredientes ativos já registrados e que possam ser utilizados também nas plantas cultivadas em menor escala (mundialmente conhecidas como *minor crops*). É o caso do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) que não possui nenhum nematicida registrado, e no momento, a utilização produtos registrados para o feijão comum e a soja podem ser empregados nessa cultura até uma data limite para registro do produto para a espécie do feijão-caupi (MAPA, 2014).

Embora banida a utilização em território brasileiro pelo seu alto nível de toxicidade, existem produtos químicos que apresentaram controle satisfatório de juvenis do nematoide-das-galhas no feijão-caupi, gerando aumento de produtividade médio de 36% em duas safras (Adegbite *et al.*, 2011; Abd-El-Khair *et al.*, 2019).

Usado como fonte alternativa para diminuir o uso de nematicidas químicos é o uso de nanopartículas com efeito nematicida, caso do óxido de cobre demonstrou efeito satisfatório em determinadas concentrações e épocas de aplicação (Tauseef *et al.*, 2021).

Os produtos biológicos para o controle e nematoides incluem bactérias do gênero *Bacillus* e suas diferentes espécies e isolados conforme empresa, e os fungos dos gêneros *Purpureocillium* Luangsa-ard, Hywel-Jones, Houbraken & Samson, *Pochonia* Batista & Fonseca e *Trichoderma* Pers., conforme Tabela 2. Alguns produtos têm em sua formulação mais de um microrganismo (Agrofit, 2022).

Estudos revelaram a eficácia de fungos como agentes de biocontrole, onde utilizam de mecanismo de ação distintos como armadilhas adesivas e conídios pegajosos, exemplos disso são *Hirsutella rhossiliensis* Minter & Brady e *Pochonia chlamydosporia* (= *Verticillium chlamydosporium*) sendo eficiente no controle de *Meloidogyne* quando há população em baixo nível (Vienene & Abawi, 200; Jaffee *et*

al., 2001; Abadiyah *et al.*, 2016) e eficientes na degradação de ovos (Atkins *et al.*, 2003). No trabalho de Youssef *et al.* (2020), outros organismos fúngicos mostraram o efeito antagonista contra *Meloidogyne* spp. em feijão-caupi e aumentos de produtividade da cultura: *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (atualmente *Metarhizium robertsii* (Metchnikoff) Sorokin) e *Paecilomyces lilacinus* (atualmente *Purpureocillium lilacinum*).

Tabela 2. Produtos microbiológicos registrados para o controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*.

Bactérias ¹	Fungos ¹
<i>Bacillus licheniformis</i> (Weigmann) Chest	<i>Purpureocillium lilacinum</i> Luangsa-ard, Hywel-Jones, Houbraken & Samson (= <i>Paecilomyces lilacinus</i>)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> Priest, Goodfellow, Shute & Berkeley	
<i>Bacillus firmus</i> Bredemann & Werner	<i>Pochonia chlamydosporia</i> (Goddard) Zare and Gams
<i>Bacillus methylotrophicus</i> Madhaiyan, Poonguzhali, Kwon & Sa	
<i>Bacillus subtilis</i> (Ehrenberg) Cohn	
<i>Bacillus velezensis</i> Ruiz-Garcia, Bejar, Martinez-Checa, Llamas & Quesada	<i>Trichoderma endophyticum</i> F.B. Rocha, Samuels & P. Chaverri

¹:espécies identificadas possuem diferentes isolados conforme empresa.

Fonte: Agrofit (modificado): 2022

Entre as bactérias, o gênero *Pasteuria* Metchnikoff abriga pouco mais de 300 espécies que apresentam potencial em parasitar nematoides (Chen & Dickson, 1998). Estudos em casa de vegetação e no campo mostraram resultados eficientes na utilização de *Pasteuria* spp. na redução de galhas, redução de população e reprodução desses nematoides (Weibelzahl-Fulton *et al.*, 1996; Kokalis-Burelle, 2015). As bactérias do gênero *Bacillus*, também registradas pelo MAPA, mostram resultados interessantes de eficiência. A mortalidade de *M. incognita* atingiu 90% com o uso de *B. cereus* Frankland & Frankland (Gao *et al.*, 2016) e *Bacillus firmus* inibiu a eclosão de juvenis, resultando na morte de ovos de *M. incognita* (Xiong *et al.*, 2015). *Bacillus*.

subtilis e *B. pumilus* Meyer and Gottheil reduziram em 82% e 81,8%, respectivamente, os índices de reprodução de *M. incognita* (Abd-El-Khair *et al.*, 2019). Portanto, a utilização de rizobácterias auxilia o controle de nematoides e promove o crescimento de plantas (Abd-El-Khair *et al.*, 2019).

Controle físico se baseia na solarização, onde utiliza-se energia solar e estrutura plástica para causar aquecimento por volta de 45°C, ocorrendo a inativação dos inóculos. A adoção dessa prática se torna viável em pequenas áreas, por torná-las improdutivas por um período de mínimo de 1 mês. No Brasil, a técnica é comumente empregada em estufas de hortaliças (Bedendo *et al.*, 2018).

A utilização de plantas antagonistas e armadilhas é um método cultural que vem ganhando proporções interessantes. Após o cultivo de plantas como *Mucuna pruriens* (L.) DC. plantas hospedeiras de *Meloidogyne* spp. não produziram galhas e massas de ovos, e após *Crotalaria spectabilis* Roth. e *C. retusa* L. apresentaram índices de galhas insignificantes quando parasitadas por *M. arenaria*, *M. incognita* e *M. javanica* (Osei *et al.*, 2019). As leguminosas têm preferência nas rotações de cultura, devido à sua capacidade de fornecer nitrogênio e desempenharem papel fundamental na ciclagem de nutrientes (Osei *et al.*, 2019).

Outros estudos levantaram possibilidades do uso de extratos de plantas com propriedades nematicidas, como forma de redução da população do patógeno e como possíveis promotores de crescimento, por exemplo: plantas daninhas (Khan *et al.*, 2017), *Azadirachta indica* A.Juss. (neem) e *Eucalyptus citriodora* (atualmente *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S.Johnson) (eucalipto) (Khan *et al.*, 2008), *Hunteria umbellata* (K.Schum) Hallier e *Mallotus oppositifolius* (Geiseler) Müll.Arg. (Okeniyi *et al.*, 2013), e *Capsicum annuum* L. (Bawa *et al.*, 2014), além de fontes de carbono como de extrato de Basidiomicetos da espécie *Pleurotus ostreatus*

(Jacq. ex Fr.) P.Kumm. (Youssef & El-Nagdi, 2021) e farelo de soja (Testen *et al.*, 2021).

Uma das principais e mais econômicas medidas de controle para fitonematoides é o uso de resistência de sua hospedeira. Ganha proporções maiores quando comparadas ao custo e a toxicidade de produtos químicos, como os nematicidas (Williamson & Kumar, 2006). A resistência genética geralmente está ligada ao impedimento de finalização do seu ciclo de vida pelo bloqueio de desenvolvimento dos sítios de alimentação do nematoide (Huang, 1985).

A rotação de culturas parece ser uma boa alternativa para o manejo desses patógenos de solo (Asmus & Richetti, 2010) e quando se utiliza cultivares resistentes sua adoção se torna mais vantajosa. Alguns objetivos do melhoramento são acréscimo de produtividade, cor e tamanho desejável, principalmente de feijão consumido *in natura*, por exemplo (Freire Filho *et al.*, 2001) e resistência a doenças, onde hospedeiras restringem a reprodução do nematoide em ambiente favorável devido a presença de algum gene de resistência (Siqueira & Inomoto, 2008). Conhecer e identificar possíveis genes de resistência é essencial para manejar esses organismos indesejáveis a longo prazo. Pesquisas a campo tem obtido resultados que a utilização e rotação com cultivares resistentes é um método eficiente para a redução da população de patógenos (Molinari, 2010; Mukhtar *et al.*, 2014; Bernard *et al.*, 2017).

3.4.Cultura do feijão-caupi

Originário de terras africanas, o feijão-caupi também conhecido como feijão-fradinho, feijão-de-corda, feijão-miúdo, feijão-catador conforme a região do país (Freire Filho *et al.*, 2011a) é uma leguminosa pertencente à classe Magnoliopsida, ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo

phaseolineae, gênero *Vigna*, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp, composta por quatro cultigrupos e várias variedades separadas de acordo com as cores dos grãos (Freire Filho *et al.*, 2011).

Chegou ao Brasil por meio dos colonizadores portugueses. Seus principais usos e importância estão relacionados à geração de emprego, alimentação humana na forma de grãos ou farinhas, além de compor um importante prato nordestino, o acarajé, e fazer parte da alimentação animal como componente na formulação de rações (Frota *et al.*, 2008). Possui teores de proteínas de 18 a 26% (François & Sizaret, 1981), altos teores de minerais, alto valor energético, teores relevantes de compostos bioativos com atividade antioxidante e tempo de cocção curto, essas características o qualifica como interessante para a alimentação humana com alta aceitação pelas famílias (Abreu *et al.*, 2019).

A cultura apresenta rusticidade, tolerância à seca, ciclo médio de 90 dias, necessidade de longo fotoperíodo, hábito de crescimento determinado e indeterminado, sendo que o último enquadra a maioria das cultivares, apresentam porte de ereto a prostado; pode ser cultivada em ampla variedade de solos e temperatura ótima para crescimento de 18 a 30°C (Wang *et al.*, 2006; Freire Filho *et al.*, 2011a). As sementes possuem formato arredondado nas cores marrom, verde, amarela, branca, apresentando pontuações ou não (Nwokolo & Ilechukwu, 1996). Apesar de ser uma planta autógama com baixas taxas de fecundação cruzada (Sousa *et al.*, 2006), apresentam grande variedade genética em suas cultivares, explicando seus diferentes potenciais produtivos e características morfológicas e o sucesso de melhoramentos intencionais (Oliveira *et al.*, 2015).

Países africanos foram detentores das maiores produções em 2020, Nigéria (3,647 milhões de ton.), Níger (2637 mil ton.), Burkina Faso (666 mil ton.), Quênia

(264 mil ton.) e Senegal (254 mil ton.) lideram os vinte maiores produtores. No continente asiático, Myanmar (111 mil ton.) aparece na posição décima primeira, no continente americano, Estados Unidos da América (18 mil ton.) na décima oitava posição, e na Europa, Sérvia (16 mil ton.) como o vigésimo maior produtor de feijão-caupi (FAO, 2020). De acordo com a soma da produtividade dos 20 maiores produtores, ocorreu um crescimento de 12% entre 2016 e 2020, sendo que o maior período de evolução compreende os anos de 2019 e 2020, registrando aumento de 5% (FAO, 2020). Esses valores podem ser imprecisos, no Brasil, por exemplo, não há divisão da produção do feijão comum e feijão-caupi em âmbito internacional, portanto a FAO não caracteriza o Brasil como produtor da cultura.

O Brasil conta com dois tipos principais de produção, o feijão-caupi produzido de forma intensiva, como é o caso dos plantios no estado do Mato Grosso, o maior produtor, produzindo 166 mil toneladas por safra em menos de 100 estabelecimentos agrícolas, e uma agricultura familiar, caso do Ceará que tem a maior área com feijão-caupi e maior número de estabelecimentos, porém produz 42% a menos que em Mato Grosso (IBGE, 2017). Os rendimentos médios de sacas por hectare no estado do Ceará é de 4,3 sc/ha e em Mato Grosso ultrapassa 20 sc/ha (IBGE, 2017), valores esses que demonstram a necessidade inserir inovações tecnológicas simples e econômicas para auxiliar os agricultores de pequeno porte a aumentar sua produção, pois dependem do grão para sua segurança alimentar.

Estatísticas mostram que o crescimento da população humana acarretará em aumento da demanda por alimentos de 60 a 110% considerando os anos de 2005 a 2050 (Alexandratos & Bruinsma, 2012), estudos mais recentes projetam aumento populacional de 8 bilhões de pessoas para 14,7 bilhões de pessoas do ano 2020 a 2100 (World Population Prospects, 2022). O desenvolvimento de cultivares com maior

potencial produtivo, resistente a doenças, arquitetura de planta adequada para adensamento e colheita viabilizam a utilização dessa cultura na rotação de culturas e principalmente se implementada na safrinha (Bezerra *et al.*, 2020).

No Brasil, 23 espécies de nematoides foram relatadas parasitando feijão-caupi, predominando *M. incognita*, *M. javanica* e *P. brachyurus* (Godfrey, 1929) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941 (Ponte, 1987; Silva, 2000; Siqueira & Inomoto, 2008), *Heterodera cajani* Koshy, 1967 (Abouleid *et al.*, 2015). A maioria dos danos está relacionada ao atraso na floração e redução do sistema radicular, prejudicando a nutrição e enchimento dos grãos, ocorrendo decréscimo de até 39% na produção (Adegbite, 2011), valor que pode ser maior ainda se outros organismos estiverem presentes, desenvolvendo um complexo de doenças com dificuldades de serem controladas (Bernard *et al.*, 2017).

3.5.Resistência em feijão-caupi

As plantas desenvolveram mecanismos de defesa físicos, químicos e um sistema imunológico especializado (Williamson & Kumar, 2006). Os genes de resistência (genes R) conferem resistência a espécies ou cepas de patógenos a partir da geração de proteínas que reconhecem fatores de virulência e avirulência do patógeno (Trudgill & Blok, 2001) podendo gerar reação de hipersensibilidade (HR) próxima ao local de invasão dos nematoides (Vos *et al.*, 1998).

Entre os genes de resistência aos nematoides incluem: *HsI^{pro-1}* da beterraba, conferindo resistência a *Herodera schachtii* Shmidt, 1871, o primeiro a ser clonado (Cai *et al.*, 1997), *Mi-1*, *Mi-3* e *Mi-9* do tomate, resistência a *Meloidogyne* ssp. (Miligran *et al.*, 1998; Vos *et al.*, 1998; Ammiraju *et al.*, 2003; Yaghoobi *et al.*, 2005), *Me3* da pimenta, resistente ao nematoide das galhas (Dijan-Caporalino *et al.*, 2001),

Rcm1 da batata, também resistente a *Meloidogyne* spp. (Rouppé van der Voort *et al.*, 1999), e como exemplos do objeto do estudo, os genes *Rk* e *Rk²* (Petrillo *et al.*, 2006) conferindo resistência ao nematoide das galhas em feijão-caupi.

Esses genes que conferem respostas a nematoides, geralmente carregam os domínios característicos NBS-LRR (no inglês, *nucleotide binding site - leucine rich repeats*; em português, ligação de nucleotídeo rico em leucina) (Bernard *et al.*, 2017). O sequenciamento do genoma do feijão-caupi realizado por Lonardi e colaboradores (2019) possibilitou também estudos mais aprofundados podendo obter a localização desses genes e suas características, além de descobertas de múltiplas cópias de genes NBS-LRR, que podem estar ligados a genes de resistência ao nematoide-das-galhas.

A descoberta do gene *Rk* por Fery & Dukes (1980) foi revolucionária, e na época, foi encontrada resistência para os patógenos *M. incognita*, *M. javanica* e *M. hapla*. Estudos mais recentes indicaram que as plantas que contém o *locus Rk* mostraram distinção de vacuolização de células gigantes após 9 dias de infecção, possivelmente preenchidas com hidrolases e toxinas, prejudicando assim, a alimentação e consequentemente o estabelecimento do patógeno (Das *et al.*, 2008), concluindo que esse gene tem sua ação tardia, não impedindo a entrada, mas limitando a fixação do nematoide.

Descoberto por Roberts *et al.* (1996) o gene *Rk²* encontrado na cultivar IT84S-2049, ligado ao *locus Rk*, no entanto, essa cultivar nigeriana apresenta suscetibilidade a outras doenças como o *Fusarium*. O alelo recessivo *rk3*, encontrado no genótipo H8-8R por Ehlers *et al.* (2000) é independente do loco *Rk*, onde estando sozinho induz resistência apenas parcial, porém ao combinar com o gene *Rk* há um acréscimo importante no nível de resistência, sugerindo que combinações gênicas resultam em formas de resistência (Ehlers *et al.*, 2000). Com a finalidade de selecionar genótipos

com genes diferentes de *Rk* são necessárias populações de *M. incognita* ou *M. javanica* virulentas para *Rk*, selecionando assim, plantas com fenótipo para alta resistência.

O mapeamento de QTL realizado por Huynh *et al* (2015) localizou a região genômica do feijão-caupi associada ao *locus Rk* e se encontra no grupo de ligação 11 e no cromossomo 04. A localização foi definida utilizando marcadores flankeados após sucessivos retrocruzamentos com linhagens quase isogênicas. Com a descoberta da posição do gene *Rk* será facilitada a clonagem de genes que controlam a resistência ao nematoide das galhas (Huynh *et al.*, 2015).

Conhecido por *QRk-vu9.1* outro QTL, que forneceu informações importantes para possíveis descobertas de outros genes associados a resistência a *M. incognita* e *M. javanica* no feijão-caupi. Conforme Santos *et al.* (2018) o novo QTL está presente no grupo de ligação 9, no cromossomo 11, portanto, representa um novo loco de resistência não associado a *Rk* e *Rk²*. Recentemente, foi detectada fonte de resistência no cromossomo 01 com potencial de impedimento da indução de galhas e produção de massa de ovos, sendo que a combinação entre fontes de resistência presentes no cromossomo 04 e 01 apresentaram controle efetivo para *M. javanica* (Ndeve *et al.*, 2019).

A teoria gene-a-gene formulada por Flor (1956) propõe que cada gene de resistência (R) no hospedeiro possui um gene de avirulência correspondente no patógeno (Avr) associado. Dessa forma, os sinais de resistência podem se manifestar em momentos, localização e níveis diferentes e são resultantes da diversidade de mecanismos fisiológicos: graus de necrose, ausência de galha ou galhas com crescimento atrofiado, inibição da formação de sítios de alimentação e até mesmo falhas na reprodução de fêmeas, mecanismos que são ativados através da interação gene-a-gene (Williamson & Kumar, 2006; Bernard *et al.*, 2017). Phan *et al.* (2018)

ressaltam que caracterizar especificamente os mecanismos de defesa envolvidos é essencial para o melhor entendimento e incorporação no melhoramento genético.

As proteínas expressas ao ocorrer infecção apresentaram respostas diferenciais em variedade altamente resistente, onde 37 proteínas são únicas ou com teores mais altos comparados com variedade um pouco mais suscetível (Ehlers *et al.*, 2002; Caillaud *et al.*, 2008). Algumas proteínas parecem ser falsamente atribuídas como componente para resistência ao nematoide das galhas (proteína especificadora de nitrila, RPP13 e espermidina sintase), entende-se que o estresse oxidativo e a degradação de glucosinolatos fazem parte dos mecanismos de resistência do feijão-caupi em resposta ao nematoide (Villeth *et al.*, 2015).

A plasticidade do genoma de *Meloidogyne* é explicada pela presença de elementos transponíveis, podendo apresentar características de repetição envolvendo rearranjos genômicos que levam a perdas de porções de genes ou acréscimos de cópias do gene, ou características de mobilidade, caracterizado pela inserção de genes em regiões codificadoras ou reguladoras na expressão causando desestruturação da funcionalidade e expressão desses genes (Kozlowki *et al.*, 2020). As mutações pontuais são insuficientes para a adaptação da espécie com a finalidade de infecção eficiente das plantas, porém o modelo de elementos transponíveis precisa ser melhor estudado, pois pode impactar fortemente no genoma (Koutsovoulos *et al.*, 2020).

Estudos de Castagnone-Sereno *et al.* (2019) indicaram que essas repetições de genes ao longo do genoma não acontecem de forma aleatória e sim em regiões onde ocorrem duplicações ou perdas de genes, ocorrendo, portanto, variação genética explicando a capacidade de uma população ser virulenta ou avirulenta. Com a movimentação de material vegetal entre as áreas infestadas com nematoides vivos, há uma intensa mistura genética e consequentemente mistura entre populações (Ghaderi

et al., 2020). Mattos *et al.* (2017) exemplificaram a diversidade populacional em arroz dos nematoides *M. graminicola*, *M. oryzae* e *M. javanica*.

Várias populações de *M. incognita* e *M. javanica* testados por Roberts & Mathews (1995) e Roberts *et al.* (1996) superaram a resistência na presença do gene *Rk*, se tornando este cada vez menos eficiente a cada cultivo, fatos que respaldam a importância da procura de fontes adicionais de resistência a *Meloidogyne* spp.

A piramidação de genes é uma estratégia dentro do melhoramento que engloba a combinação de genes diferentes em uma única cultivar. Essa metodologia tem dado condições para aumentar a durabilidade dos genes de resistência a diferentes patógenos e evitando o surgimento de outras raças (Arruda, 2009). O uso de multilinhas mostrou resultados satisfatórios de desempenho agronômico na presença de brusone no arroz se comparada às linhagens suscetíveis (Castro, 2019).

A influência da diversidade dos patógenos e a diversidade das plantas como citado por Mundt (2014) dificulta a identificação e as análises da eficiência dos mecanismos de piramidação de alelos de resistência no feijão-caupi. Além disso, ainda não se conhece os mecanismos envolvidos no aumento da durabilidade da resistência, portanto esse arranjo ainda necessita ser melhor estudado. É consenso que a probabilidade de um patógeno assexuado sofrer mutação e se tornar virulento é pequena (Mundt *et al.*, 2014).

A rotação de genes também é uma forma de preservar a tecnologia, a partir da substituição por um gene diferente conforme o aparecimento de raças virulentas, no entanto, existe a dificuldade de logística quanto ao monitoramento da virulência com precisão e a imediata disponibilidade de sementes em quantidade (Mundt *et al.*, 2014). Por fim, a resistência quantitativa costuma ser mais durável que a resistência basal do

hospedeiro, por serem genes menores, mais funcionais em comparação a genes principais e fracos presentes na origem (Parlevliet, 1989; Mundt *et al.*, 2014).

Após estudos envolvendo análises proteômicas e transcriptômicas realizados por Ribeiro *et al.* (2022) esclareceu que os processos biológicos envolvidos na resistência a *Meloidogyne* spp. englobam a regulação da transcrição e o fortalecimento da parede celular, mas a condição que sobressai é a associação dos genes NBS-LRR-WRKY que ativam rapidamente os genes R, responsáveis por produzir inibidores de proteases e manter o citoesqueleto de actina, suprimindo, assim, a formação de células gigantes e o desenvolvimento de *M. incognita*.

O melhoramento de genótipos de feijão-caupi busca o incremento de produtividade, melhoria de porte, abrangência de genes de resistência e possibilitar o seu plantio em todo território nacional com diferenças climáticas locais e diferentes realidades tecnológicas de implementação e condução. Sasser (1980) já tinha conhecimento da existência ao menos duas raças de *Meloidogyne* virulentas ao gene *Rk*, desde então, a busca por materiais que apresentem resposta ao nematoide-das-galhas é incessante.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local e condução experimental

Os ensaios experimentais foram desenvolvidos em casa de vegetação localizada na Estação Experimental de Biologia (EEB) da Universidade de Brasília (UnB). As avaliações foram realizadas no Laboratório de Nematologia Vegetal do Departamento de Fitopatologia da UnB. Os experimentos foram conduzidos em sacos plásticos de 2 litros, contendo uma mistura previamente autoclavada com solo, areia lavada e substrato Bioplant na proporção de 2:1:1, respectivamente. A adubação foi feita no plantio utilizando 15 g de NPK da formulação 4-14-8. As irrigações ocorriam diariamente, e o manejo de pragas e doenças foliares foi realizado conforme a necessidade.

4.2. Eletroforese de isoenzimas para a confirmação de espécies de *Meloidogyne*

Os inóculos de *M. incognita* raça 3 e *M. javanica* foram obtidos na região oeste da Bahia, sendo o primeiro a partir da cultura de algodão (Lopes *et al.*, 2019) e o segundo a partir de plantas daninhas em cafezal coletado por Daniela Stefanelo. As duas espécies de nematoides foram mantidas em plantas de tomate cv. Santa Clara (*Solanum lycopersicum* L.).

Foram extraídas fêmeas jovens de raízes, sob microscópio estereoscópio com auxílio de pinça e bisturi, posteriormente foram colocadas em tubos mantidos em gelo contendo solução tampão para extração (4 µl de sacarose + Triton X100). Seguindo os métodos descritos por Esbenshade & Triantaphyllou (1990) com adaptações de Alonso & Alfenas (1998), a eletroforese foi realizada, e para sua identificação foram

visualizadas bandas com fenótipos de esterase, tendo o perfil de esterase de *M. javanica* (J3) como padrão.

Posteriormente à confirmação das espécies de *Meloidogyne*, os nematoides foram inoculados em tomateiros cv. Santa Clara onde foram mantidos por 90 dias em casa de vegetação para posterior extração de ovos.

Os inóculos vêm sendo utilizados em diversos outros estudos no Laboratório de Nematologia Vegetal da UnB (Dias, 2020; Silva, 2021), confirmado sua patogenicidade na espécie vegetal de interesse, o feijão-caupi.

4.3. Preparo do inóculo a partir de ovos presentes nas raízes de tomateiro

Ao término dos 90 dias de inoculação, as raízes de tomateiros foram retiradas do solo, lavadas em água potável e fracionadas em pedaços de até 5 cm com o auxílio de uma tesoura para posterior Trituração em liquidificador contendo solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) na concentração de 0,5%. De acordo com Hussey & Barker (1973) modificada por Boneti & Ferraz (1981) a suspensão contendo ovos e raízes trituradas foi vertida em um conjunto de peneiras com malhas de 50, 200 e 500 mesh. Na peneira de 500 mesh os ovos retidos foram lavados até à retirada completa do hipoclorito da amostra. A suspensão de ovos presente na peneira foi recolhida, e com o auxílio de um microscópio óptico e uma placa de contagem de Peter, os ovos foram contados e a suspensão calibrada (1000 ovos + J2 por ml de suspensão) para posterior inoculação nas plantas de feijão-caupi.

4.4. Inoculação e avaliação da reação dos genótipos de feijão-caupi a *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*

Foram multiplicadas 20 linhagens de feijão-caupi provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Meio-Norte e seis genótipos controle em casa de vegetação (Tabela 3). As sementes foram armazenadas em geladeira com a finalidade de manter seu vigor.

Tabela 3. Linhagens de feijão-caupi provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Meio-Norte e genótipos usados como controle.

AM-25-1-1	MNC-06-895-1
AM-74-1	MNC-06-895-2
Casa Amarela-2	MNC-06-907-29
Cavaleiro 17	Juazeiro-2
Cordeiro-2	MLB-159
MNC01-631F-20-5	MLB-73
MNC04-782F-108	S. Benedito-5
MNC05-835F-15	Tauã-11
MNC05-847B-123	Bico de ouro 1-5-11
MNC99-541F-15	Pingo de ouro 1-5-14
NIL-Cb3-egg ¹	IT93K-503-1 ¹
CB46-Null ¹	NIL-2-genes ¹
IT84S-2049 ¹	NIL-3-genes ¹

¹: consideradas testemunhas desse estudo

Como objeto de estudo, foram utilizados 20 genótipos de feijão-caupi para avaliação da reação a *M. incognita* e 17 genótipos para *M. javanica*, provenientes da Embrapa Meio-Norte. Foram adicionados aos experimentos 6 genótipos que são considerados como padrão de resistência ou susceptibilidade, dentre eles duas cultivares nigerianas consideradas resistentes (IT84S-2049 e IT93K-503-1) e quatro isolinhas derivadas da cultivar CB46 e desenvolvidas pela Universidade da Califórnia

–Riverside, diferindo entre si pela ausência ou presença de genes de resistência. A cultivar CB-46Null e tomate cv. Santa Clara foram adicionadas ao experimento para confirmação de viabilidade do inóculo, conforme Tabela 4.

Os ensaios envolvendo *M. incognita* foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, com 27 tratamentos, 6 repetições e 2 repetições no tempo. Com o patógeno *M. javanica*, foram 24 tratamentos, 6 repetições e 2 repetições no tempo.

A inoculação foi realizada aos 16 dias após o plantio com população inicial (Pi) de 12000 ovos + J2 de *M. incognita* ou *M. javanica*, com o auxílio de uma pipeta de 10 ml. A suspensão foi igualmente distribuída em quatro orifícios distantes 2 cm do caule, aproximadamente.

Tabela 4. 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>	
AM-25-1-1 ¹	-	-	*	
AM-74-1 ¹	-	-	*	
Casa Amarela-2	-	-	-	
Cavaleiro 17 ¹	-	-	*	
Cordeiro-2	-	-	-	
EDHE MNC01-631F-20-5	-	-	-	
EDHE MNC04-782F-108	-	-	-	
EDHE MNC05-835F-15	-	-	-	
EF Verde MNC05-847B-123	-	-	-	
EF Verde MNC99-541F-15	-	-	-	
Fradinho MNC-06-895-1	-	-	-	
Fradinho MNC-06-895-2	-	-	-	
Fradinho MNC-06-907-29	-	-	-	
Juazeiro-2	-	-	-	
MLB-159	-	-	-	
MLB-73	-	-	-	
S. Benedito-5	-	-	-	
Tauá-11	-	-	-	

VCU-Cores Bico de ouro 1-5-11	-	-	-	
VCU-Cores Pingo de ouro 1-5-14	-	-	-	
IT93K-503-1	<i>QRk-vu11.1</i>	resistente	resistente	Huynh <i>et al.</i> , 2015
IT84S-2049	<i>RkRk/Rk²Rk²/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> , 2019
NIL-CB3-egg	<i>cb3</i>	resistente	suscetível	Roberts <i>et al.</i> , 1996
CB46-Null	-	suscetível	suscetível	Ndeve <i>et al.</i> , 2021
Tomate		suscetível	suscetível	

¹:genótipos que não foram avaliados para *M. javanica*.

*:reações a *M. javanica* não validadas para os genótipos.

Os experimentos foram instalados em momentos diferentes, e suas temperaturas variaram conforme as datas. As temperaturas médias, mínimas e máximas estão descritas na Figura 1 e as datas especificadas na Tabela 5. O datalogger utilizado foi do modelo RC-5, marca Elitech.

Tabela 5. Datas de inoculação dos experimentos de reação de feijão-caupi a *Meloidogyne* spp. em casa de vegetação, na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília.

Data	Patógeno	Experimento
13/05/2021 à 12/07/2021	<i>M. incognita</i>	1
22/10/2021 à 21/12/2021		2
10/01/2022 à 11/03/2022	<i>M. javanica</i>	1
22/02/2022 à 23/04/2022		2

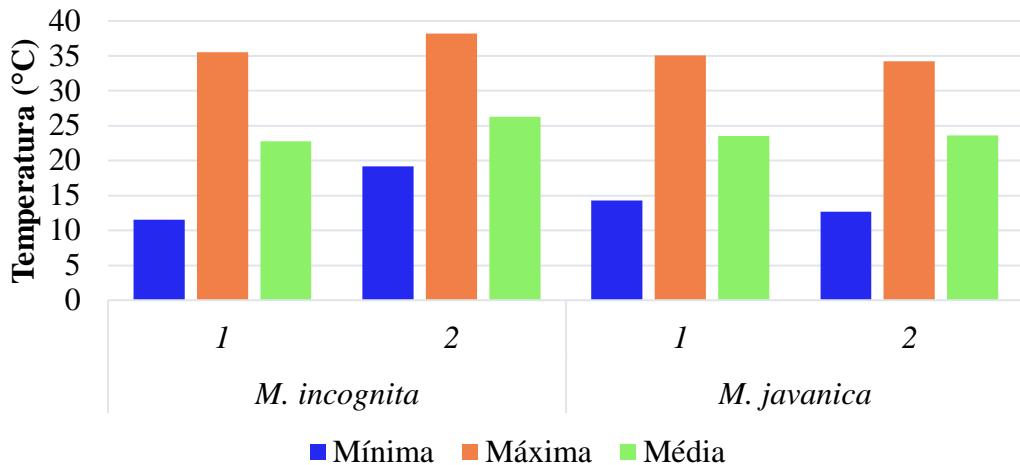


Figura 1. Temperaturas de condução dos experimentos de reação de feijão-caupi a *Meloidogyne* spp. em casa de vegetação, na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília.

Após 60 dias da inoculação, as plantas foram retiradas da casa de vegetação e suas raízes foram lavadas. As variáveis avaliadas foram: índice de galhas (IG), massa fresca de raiz (MFR), total de ovos (PF), J2/grama de raiz (NGR) e fator de reprodução (FR).

O IG foi avaliado através da escala desenvolvida por Bridge & Page (1980), conforme a Figura 2. Essa escala de notas avalia os níveis de severidade do sintoma de galhas em cada sistema radicular, onde 0: não apresenta galha no sistema radicular; 1: muito poucas, galhas pequenas de difícil observação; 2: muito poucas, galhas pequenas mas que podem ser vistas em raízes secundárias; 3: galhas pequenas, porém facilmente vistas nas raízes secundárias; 4: algumas galhas grandes nas raízes secundárias, e pouca saliência de galhas na raiz principal; 5: várias galhas grandes nas raízes secundárias e presença de galhas de fácil visualização na raiz principal; 6: galhas grandes e raiz principal com muitas galhas aparentes; 7: galhas grandes e juntas em toda raiz; 8: raiz principal fortemente galhada; 9: todas as raízes severamente afetadas, planta morrendo; 10: planta geralmente morta, falta da presença de sistema radicular.

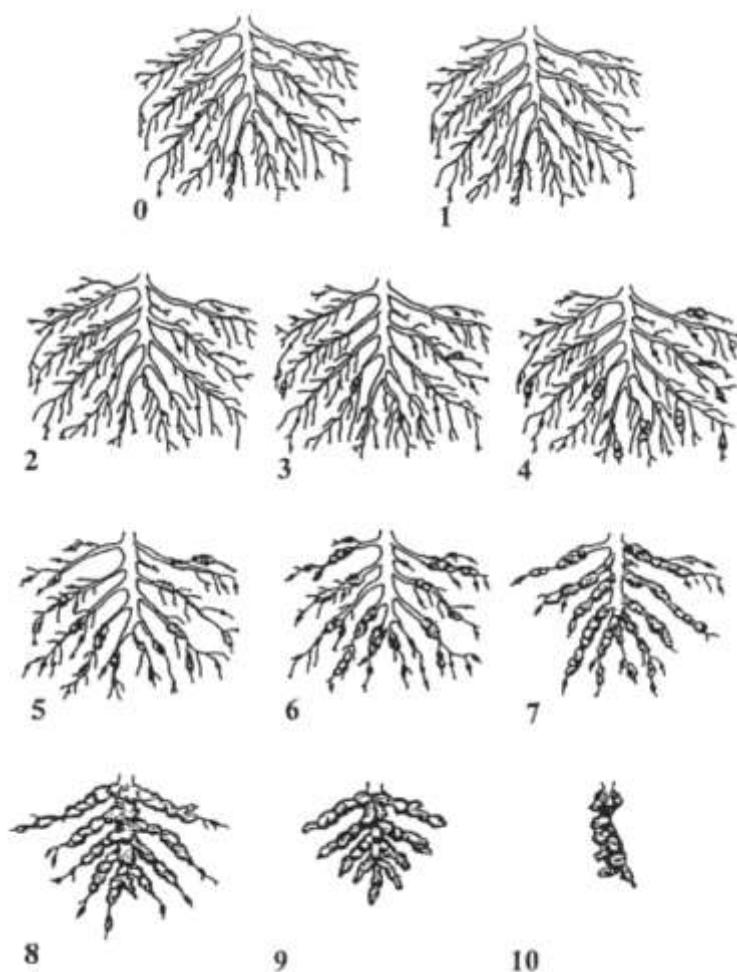


Figura 2. Escala de notas de Bridge & Page (1980)

O sistema radicular foi separado da parte aérea e após a secagem parcial das raízes, obteve-se a MFR a partir da pesagem em balança eletrônica, da marca Even®. Posteriormente, as raízes foram processadas pelo método de extração descrito no item 3.3, adicionando processos de centrifugação em duas etapas. A primeira etapa consistiu em cinco minutos em centrifuga na velocidade de 3.500 rpm, descartando o sobrenadante ao final, na segunda por um minuto a 1.500 rpm com solução de sacarose a 50%. O sobrenadante foi passado na peneira de 500 mesh e lavados com água corrente para retirar todos os resíduos de sacarose, por fim os ovos conservados em solução de Golden X (Hooper, 1986) para posterior contagem.

Para obtenção da população final (PF) foi utilizado a lâmina de Peter e auxilio de microscópio ótico para a contagem, cada amostra foi avaliada em triplicata, a fim da obtenção da média. A quantidade de ovos por grama de raiz foi calculada pela razão entre PF e MFR. Com a razão entre PF e Pi obteve-se o FR, segundo Oostenbrink (1966) onde os genótipos que apresentaram valor igual a zero são enquadrados como imunes, aqueles que apresentaram FR igual ou maior que 1,0 suscetíveis, e os que apresentaram FR menor que 1,0 resistentes. Também foi avaliado a redução do fator de reprodução (RFR), com base em Moura & Régis (1987), onde o genótipo com maior FR foi considerado como padrão de suscetibilidade, e os demais foram classificados a partir de sua capacidade de redução do FR em comparação com o padrão, RFR entre 0-25%: altamente suscetível (AS); 26-50%: suscetível (S); 51-75%: pouco resistente (PR); 76-95%: moderadamente resistente (MR); 96-99%: resistente (R); 100%: altamente resistente (AR).

4.5. Análise estatística

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e para a normalização dos dados originais de nematoides por grama de raiz (NGR), população final de nematoides (PF), fator de reprodução (FR) foi utilizada a transformação para $\sqrt{x} + 0,5$, onde x representa o dado descrito. Com o auxílio do programa SISVAR 5.6 (Ferreira, 2019), os dados transformados foram submetidos à análise de variância e aplicado o teste Scott-Knott a 5% de probabilidade, a fim de realizar análise comparativa das médias. Para os valores de massa fresca de raiz e índice de galhas foram calculadas médias simples.

Foi realizado teste de homogeneidade das variâncias residuais, utilizando o teste F máximo de Hartley (1950), dado pela razão do quadrado médio do resíduo maior

(QMR) e o QMR menor, a fim de realizar análise conjunta dos mesmos experimentos em tempos distintos.

Tabela 6. Quadrado médio dos resíduos dos experimentos de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em duas épocas distintas.

	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>
Exp 1	0,206	0,202
Exp 2	0,371	0,301
Razão	1,804	1,489

As razões apresentaram valor inferior a 7 (sete) possibilitando a análise conjunta dos parâmetros avaliados em duas épocas distintas, onde a época foi considerada um fatorial.

As correlações de índice de galhas (IG), massa fresca de raiz (MFR) e nematoides por grama de raiz (NGR) em comparação com o fator de reprodução (FR) foram realizadas em Excel para ambas as espécies de *Meloidogyne*.

5. RESULTADOS

5.1. Reação de feijão-caupi a *Meloidogyne javanica*

5.1.1. Índice de galhas (IG)

Os IG variaram entre 3,7 e 7,7 no Exp 1 e 1,5 e 7,0 no Exp 2. Os menores IG obtidos no Exp 1 foram encontrados nos tratamentos NIL-2-genes, e o maior no genótipo MNC05-835F-15. No Exp 2, o menor IG foi de MNC-06-895-1, e o maior em Tauá 11 (Tabela 7).

Somando-se os dois momentos (Tabela 8) os índices variaram de 3,0 a 6,4. Os índices abaixo de 4,0 foram dos genótipos MNC-06-895-1, IT93K-503-1, MNC-06-895-2 e NIL-2-genes.

5.1.2. População final (PF)

No Exp 1 foram formados três grupos estatísticos onde sua PF variou de 8376 a 67722, sendo que o grupo com as menores populações é composto pelos genótipos controle (exceto NIL-CB3-egg) e os genótipos MNC-06-895-1, MNC-06-895-2, MNC-06-907-29, Bico de ouro 1-5-11, MLB-73 e Cordeiro 2 e a maiores populações foram obtidas em Juazeiro-2, Tauá-11 e São Benedito-5 (Tabela 7).

No segundo momento (Exp 2), quatro grupos estatísticos foram formados e sua população variou de 9251 (MNC-06-895-1) a 174674 (Casa Amarela-2) ovos e eventuais J2 (Tabela 7).

De forma conjunta (Tabela 8), três grupos estatísticos foram formados, destacando como menor população os genótipos controle (exceto NIL-CB3-egg) e os genótipos MNC-06-895-1, MNC-06-895-2 e MNC-06-907-29.

5.1.3. Massa fresca de raiz

As massas do Exp 1 variaram de 1,3 a 7,7 g e no Exp 2, a variação foi de 0,8 a 4,9 g (Tabela 7).

Ao observar os dados de ambos os experimentos (Tabela 8), a massa fresca de raiz variou entre os genótipos de 1,3 g a 4,6 g. O menor coeficiente de variação (CV) entre os dois momentos de avaliação foi do genótipo S. Benedito-5 com 1%, e o maior CV pertence a IT93K-503-1 com coeficiente de 77%.

5.1.4. Nematoides por grama de raiz (NGR)

O NGR variou de 3959 a 21779, pertencentes a MNC-06-895-1 e MNC05-847B-123, respectivamente, no Exp 1. Essa variação foi dividida em dois grupos estatisticamente diferentes. Divididos em três grupos, o Exp 2 contou com populações de variação de 6399 (MNC-06-895-1) a 54779 (MNC05-835F-15) (Tabela 7).

Na observação conjunta (Tabela 8), quatro grupos estatisticamente diferentes foram formados, onde os menores valores pertencem a MNC-06-895-1, IT93K-503-1, MNC-06-895-2, MNC-06-907-29 e NIL-2-genes, e os maiores MNC05-847B-123, MNC05-835F-15, Casa Amarela-2 e S. Benedito-5.

5.1.5. Fator de reprodução (FR)

No primeiro experimento (Exp 1) realizado, a fim de buscar genótipos resistentes a *M. javanica*, foram encontrados FR < 1,0 em seis genótipos, sendo três genótipos controle (IT93K-503-1, IT84S-2049, NIL-2-genes) e as linhagens MNC-06-895-1, MNC-06-895-2, MNC-06-907-29. Os maiores FR encontrados foram de

5,64 em Juazeiro-2, seguido por Tauá 11 com 4,81 e S. Benedito com 4,61 (Tabela 7).

No experimento 2 (Exp 2), apenas MNC-06-895-1 e IT93K-503-1 apresentaram reação de resistência, segundo Oostenbrink (1966) com FR<1,0. Nesse segundo momento, Casa Amarela-2 e Cordeiro 2 atingiram FR de 14,56 e 13,04, respectivamente (Tabela 7).

Ao avaliar os experimentos 1 e 2 (Tabela 8) de forma conjunta, confirma-se os genótipos MNC-06-895-1 e IT93K-503-1 com resposta a resistência *M. javanica*. Além disso, genótipos com FR>1 (IT84S-2049, Fradinho MNC-06-895-2, NIL-3-genes, Fradinho MNC-06-907-29, NIL-2-genes e CB46-Null) não se diferiram estatisticamente dos considerados resistentes por Oostenbrink (1966). Os genótipos MNC-06-895-1, IT93K-503-1, IT84S-2049, MNC-06-895-2, NIL-3-genes e MNC-06-907-29 foram considerados pouco resistentes, não ocorrendo nenhum resistente, segundo classificação de Moura & Régis (1987).

Tabela 7. Reação de genótipos de feijão-caupi inoculados com 12000 ovos de *Meloidogyne javanica*, tendo como parâmetros o índice de galhas (IG), população final (PF), massa fresca de raiz (MFR), nematoídes por grama de raiz (NGR) e fator de reprodução (FR) avaliados em duas épocas distintas, Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2022.

Genótipos ¹	IG		PF ²		MFR ²		NGR ²		FR ²		Reação ³
	Exp1	Exp 2	Exp1	Exp 2	Exp1	Exp 2	Exp1	Exp 2	Exp1	Exp 2	
Fradinho MNC-06-895-1	4,8	1,5	11416 a	9251 a	2,9	1,5	3959 a	6399 a	0,95 a	0,77 a	R
IT93K-503-1	3,8	4,0	11494 a	10371 a	2,9	0,8	4573 a	8392 a	0,96 a	0,86 a	R
IT84S-2049	5,2	4,7	8605 a	22990 a	1,6	1,0	5342 a	19745 b	0,72 a	1,92 a	S
Fradinho MNC-06-895-2	4,8	2,6	10763 a	22788 a	2,2	1,9	4644 a	14663 a	0,90 a	1,90 a	S
NIL-3-genes	5,8	5,2	14173 a	24991 a	2,0	1,5	8260 a	16817 b	1,18 a	2,08 a	S
Fradinho MNC-06-907-29	4,2	4,7	10442 a	30377 b	2,0	1,9	4547 a	15258 b	0,87 a	2,53 a	S
NIL-2-genes	3,7	4,0	8376 a	40929 b	2,7	2,2	4293 a	19884 b	0,70 a	3,41 b	S
CB46-Null	5,5	4,5	17009 a	32768 b	1,3	1,5	19896 b	21384 b	1,42 a	2,73 b	S
VCU-Cores Pingo de ouro 1-5-14	4,7	6,2	29465 b	47887 b	3,0	1,5	9811 a	39007 c	2,46 b	3,99 b	S
VCU-Cores Bico de ouro 1-5-11	6,2	6,7	17687 a	65609 c	2,3	2,0	7091 a	31915 c	1,47 a	5,47 b	S
NIL-CB3-egg	7,0	4,0	35047 b	50150 b	1,9	1,6	17508 b	32145 c	2,92 b	4,18 b	S
EF Verde MNC05-847B-123	7,0	5,3	30294 b	85236 c	1,6	1,9	21779 b	48844 c	2,52 b	7,10 b	S
EDHE MNC01-631F-20-5	6,3	5,6	37967 b	76701 c	4,8	4,5	9283 a	16822 b	3,16 b	6,39 b	S
MLB-159	5,2	5,8	31582 b	79694 c	2,4	2,4	10206 a	24067 b	2,63 b	6,64 b	S
Juazeiro-2	4,5	4,5	67722 c	51004 b	7,7	2,7	8609 a	18080 b	5,64 c	4,25 b	S
Tauá-11	5,7	7,0	57729 c	73488 c	3,1	2,7	18324 b	20697 b	4,81 c	6,12 b	S
EDHE MNC05-835F-15	7,7	4,5	42003 b	92291 c	4,8	1,7	18575 b	54779 c	3,50 b	7,69 b	S
EF Verde MNC99-541F-15	6,0	5,7	33742 b	112728 d	1,8	1,7	12614 a	42984 c	2,81 b	9,39 c	S
MLB-73	6,2	6,7	15673 a	130129 d	2,4	3,2	6399 a	33990 c	1,31 a	10,84 c	S
EDHE MNC04-782F-108	6,3	5,3	48058 b	114670 d	3,3	4,9	10719 a	23830 b	4,00 b	9,56 c	S
Casa Amarela-2	5,0	5,0	33830 b	174674 d	1,7	3,3	18956 b	59827 c	2,82 b	14,56 c	S
Cordeiro-2	4,4	5,0	14369 a	156522 d	2,1	2,9	6583 a	47074 c	1,20 a	13,04 c	S
S. Benedito-5	5,5	5,7	55268 c	134397 d	2,7	2,7	21046 b	41713 c	4,61 c	11,20 c	S
Tomate	6,3	6,3	77765	47183	3,4	2,9	23164	20332	6,48	3,93	S
Média geral	5,4	5,0	27944	71289	2,8	2,3	11001	28623	2,33	5,94	
Desvio padrão	1,0	1,2	17080	46459	1,4	1,0	6042	14634	1,4	3,87	
CV (%)	25%	30%	46%	44%	21%	20%	40%	37%	37%	39%	

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

²Transformações realizadas: População final, nematoíde por grama de raiz e fator de reprodução foram transformados para $\sqrt{x}+0,5$.

³:Classificação proposta por Oostenbrink (1966), onde S = suscetível; R = resistente.

Tabela 8. Reação de genótipos de feijão-caupi inoculados com 12000 ovos de *Meloidogyne javanica*, tendo como parâmetros o índice de galhas (IG), população final (PF), massa fresca de raiz (MFR), nematoides por grama de raiz (NGR) e fator de reprodução (FR) avaliados em conjunto em esquema fatorial(Exp 1 e Exp 2), Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2022.

Genótipos ¹	IG	PF ²	MFR ²	NGR ²	FR ²	Reação	
						1 ³	2 ⁴
Fradinho MNC-06-895-1	3,0	10235 a	2,1	5290 a	0,85 a	R	PR
IT93K-503-1	3,9	10881 a	2,0	6656 a	0,91 a	R	PR
IT84S-2049	4,9	15798 a	1,3	12544 b	1,32 a	S	PR
Fradinho MNC-06-895-2	3,8	16775 a	2,0	9654 a	1,40 a	S	PR
NIL-3-genes	5,4	19582 a	1,8	12539 b	1,63 a	S	PR
Fradinho MNC-06-907-29	4,5	21316 a	2,0	10389 a	1,78 a	S	PR
NIL-2-genes	3,8	24653 a	2,4	12088 a	2,05 a	S	S
CB46-Null	4,9	25605 a	1,4	20707 c	2,13 a	S	S
VCU-Cores Pingo de ouro 1-5-14	5,4	39513 b	2,2	25736 c	3,29 b	S	S
VCU-Cores Bico de ouro 1-5-11	6,4	41648 b	2,2	19503 b	3,47 b	S	S
NIL-CB3-egg	5,5	41912 b	1,8	24161 c	3,49 b	S	S
EF Verde MNC05-847B-123	6,2	52271 b	1,7	32605 d	4,36 c	S	S
EDHE MNC01-631F-20-5	6,0	55183 b	4,6	12634 b	4,60 c	S	S
MLB-159	5,5	55638 b	2,4	17137 b	4,64 c	S	S
Juazeiro-2	4,5	58603 c	4,6	13775 b	4,88 c	S	S
Tauá-11	6,3	66325 c	3,0	19618 c	5,53 c	S	S
EDHE MNC05-835F-15	6,1	67147 c	2,9	36677 d	5,60 c	S	S
EF Verde MNC99-541F-15	5,8	69644 c	1,7	26418 c	5,80 c	S	S
MLB-73	6,4	78104 c	2,8	20195 b	6,51 c	S	S
EDHE MNC04-782F-108	5,8	78336 c	4,0	16679 b	6,53 d	S	AS
Casa Amarela-2	5,0	97850 c	2,5	37534 d	8,15 d	S	AS
Cordeiro-2	4,7	99661 c	2,5	30878 c	8,31 d	S	AS
S. Benedito-5	5,6	102745 c	2,7	33446 d	8,56 d	S	AS
Tomate	6,3	62474	3,1	21748	5,21	S	S
Média geral	5,2	49975	2,5	19864	4,2		
Desvio padrão	0,9	28614	0,9	9361	2,4		
CV (%)	28%	50%	21%	45%	43%		

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

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

³:Classificação proposta por Oostenbrink (1966), onde S = suscetível; R = resistente.

⁴: Classificação proposta por Moura & Régis (1987), onde AS = altamente suscetível; S = suscetível; PR = pouco resistente.

5.2. Seleção para resistência a *Meloidogyne incognita*

5.2.1. Índice de galhas (IG)

No Exp 1, os valores obtidos de IG variaram de 1,0 (IT84S-2049) a 4,7 (CB46-Null). Já no Exp 2, os dados de IG variaram de 1,3 (NIL-2-genes) a 6,4 (CB46-Null) (Tabela 9).

Ao analisar a combinação das épocas (Tabela 10), o IG variou de 1,6 (IT93K-503-1) a 5,5 (CB46-Null). Os menores índices separados estatisticamente são dos genótipos IT93K-503-1 e NIL-2-genes e os maiores são de Casa Amarela-2 e CB46-Null.

5.2.2. População final (PF)

No Exp 1 a PF variou de 3826 (NIL-2-genes) a 63811 (Tauá-11), onde foram agrupados em três grupos estatisticamente diferentes. No Exp 2, a PF variou de 2414 (NIL-2-genes) a 212775 (AM-25-1-1), e foram agrupados em cinco grupos estatisticamente distintos (Tabela 9).

Excluindo o fator época (Tabela 10), é possível observar que a PF variou de 3120 a 120182 e pertence a NIL-2-genes e AM-25-1-1, respectivamente. Os dados foram agrupados em quatro grupos estatisticamente distintos, onde os maiores valores foram dos genótipos Tauá-11, AM-25-1-1, Casa Amarela 2, Cavaleiro 17, MLB-73 e S. Benedito-5, e os menores MNC-06-895-1, MNC-06-895-2, NIL-3-genes, IT93K-503-1, IT84S-2049 e NIL-2-genes.

5.2.3. Massa fresca de raiz (MFR)

As massas do Exp 1 variaram de 0,8 (NIL-2-genes) a 5,3 (Cavaleiro 17). No Exp 2 variaram de 0,5 (NIL-2-genes, NIL-3-genes e MNC-06-895-2) a 6,2 (MNC01-631F-20-5 e AM-25-1-1) (Tabela 9).

Ao observar os dados de ambos os experimentos (Tabela 10), a massa fresca de raiz variou entre os genótipos de 0,68 g (NIL-2-genes) a 5,54 g (Cavaleiro 17). O coeficiente de variação da massa de cada genótipo variou entre as duas épocas de avaliação de 2 a 62%, a menor variação ocorreu no genótipo CB46-Null e as maiores nos genótipos MNC-06-895-2, IT93K-503-1 e Tauá-11.

5.2.4. Nematoides por grama de raiz (NGR)

No Exp 1, a variação ocorreu entre 4376 (NIL-2-genes) e 52626 (CB46-Null). Observando o Exp 2, a variação foi de 5346 (NIL-2-genes) e 76253 (NIL-CB3-egg) (Tabela 9).

Na análise conjunta, a variação ocorreu entre 4861 (NIL-2-genes) e 4711 (NIL-CB3-egg). A análise estatística dividiu os genótipos em quatro grupos distintos (Tabela 10).

5.2.5. Fator de reprodução (FR)

No Exp 1, a fim de buscar genótipos resistentes a *M. incognita*, foram encontrados valores FR< 1,0 em seis genótipos, sendo eles quatro genótipos controle (NIL-2-genes, IT84S-2049, IT93K-503-1 e NIL-3-genes) e as linhagens MNC-06-895-1 e MNC99-541F-15. Os genótipos se agruparam em três grupos estatisticamente diferentes (Tabela 9).

No Exp 2, os genótipos NIL-2-genes, IT84S-2049, IT93K-503-1, MNC-06-895-2, Pingo de ouro 1-5-14 apresentaram reação de resistência conforme Oostenbrink

(1966). Casa Amarela-2 e AM-25-1-1 atingiram FR de 14,92 e 13,77, respectivamente.

Os genótipos foram divididos em cinco grupos estatisticamente distintos (Tabela 9).

Ao avaliar os experimentos 1 e 2 de forma conjunta (Tabela 10), as linhagens MNC-06-895-2, MNC-06-895-1 obtiveram reação de resistência a *M. incognita*, segundo Oostenbrink (1966), assim como os genótipos controle (NIL-2-genes, IT84S-2049, IT93K-503-1 e NIL-3-genes). O genótipo controle NIL-2-genes foi considerado resistente e os genótipos IT84S-2049, IT93K-503-1, NIL-3-genes, MNC-06-895-2, MNC-06-895-1, MNC05-847B-123 e Pingo de ouro 1-5-14 foram considerados moderadamente resistentes (Moura & Régis, 1987).

Tabela 9 Reação de genótipos de feijão-caupi inoculados com 12000 ovos de *Meloidogyne incognita*, tendo como parâmetros, o índice de galhas (IG), população final (PF), massa fresca de raiz (MFR), nematoides por grama de raiz (NGR) e fator de reprodução (FR), avaliados em duas épocas distintas, Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2022.

Genótipos ¹	IG		PF ²		MFR ²		NGR ²		FR ²		Reação ³						
	Exp1	Exp 2	Exp1	Exp 2	Exp1	Exp 2	Exp1	Exp 2	Exp1	Exp 2							
NIL-2-genes	2,2	1,3	3826	a	2414	a	0,8	0,5	4376	a	5346	a	0,32	a	0,20	a	R
IT84S-2049	1,0	3,8	5937	a	11235	a	1,5	1,3	4379	a	10279	a	0,49	a	0,94	a	R
IT93K-503-1	1,6	1,7	11164	a	6312	a	2,7	1,1	4984	a	5894	a	0,93	a	0,53	a	R
NIL-3-genes	1,7	3,5	6821	a	12024	a	1,1	0,5	7872	a	15025	b	0,57	a	1,00	a	S
Fradinho MNC-06-895-2	2,8	3,4	16651	b	3933	a	1,3	0,5	9335	a	6093	a	1,39	b	0,33	a	S
Fradinho MNC-06-895-1	2,8	3,3	9285	a	13741	a	1,5	1,7	7306	a	9074	a	0,77	a	1,15	a	S
EF Verde MNC05-847B-123	3,8	4,8	20457	b	20293	b	1,8	0,8	15150	b	33893	c	1,70	b	1,69	b	S
VCU-Cores Pingo de ouro 1-5-14	2,7	5,0	43461	c	9976	a	1,5	0,6	37844	c	17075	b	3,62	c	0,83	a	S
EDHE MNC05-835F-15	3,2	5,4	24939	b	52642	c	1,5	0,7	22920	b	61312	d	2,08	b	4,39	c	S
Juazeiro-2	2,2	4,3	25852	b	65400	c	2,5	3,2	8748	a	20904	b	2,15	b	5,45	c	S
Cordeiro-2	3,0	5,5	28650	b	71954	c	3,4	2,6	8086	a	29492	c	2,39	b	6,00	c	S
CB46-Null	4,7	6,4	62059	c	41160	b	1,2	1,2	52626	c	31473	c	5,17	c	3,43	b	S
EDHE MNC04-782F-108	3,3	5,5	17268	b	87557	c	1,6	3,0	9032	a	32819	c	1,44	b	7,30	c	S
VCU-Cores Bico de ouro 1-5-11	3,2	5,6	29655	b	73860	c	2,9	2,1	17241	b	36433	c	2,47	b	6,15	c	S
NIL-CB3-egg	3,2	6,2	33131	b	85053	c	1,2	1,1	27683	b	76253	d	2,76	b	7,09	c	S
Fradinho MNC-06-907-29	4,0	5,6	26553	b	84133	c	2,7	1,8	14360	b	43206	c	2,21	b	7,01	c	S
EF Verde MNC99-541F-15	2,3	5,8	10890	a	103553	c	1,8	3,4	6374	a	28537	c	0,91	a	8,63	c	S
MLB-159	3,0	4,2	59008	c	61950	c	2,0	2,4	24661	b	21265	b	4,92	c	5,16	c	S
EDHE MNC01-631F-20-5	3,2	6,0	26786	b	117517	d	3,6	6,2	10383	a	24167	c	2,23	b	9,79	d	S
S. Benedito-5	3,0	5,4	48289	c	95947	c	2,6	1,8	19779	b	50017	d	4,02	c	8,00	c	S
AM-74-1	3,2	3,5	29054	b	120676	d	2,9	3,0	15827	b	48224	d	2,99	b	10,06	d	S
MLB-73	3,3	4,5	60043	c	94993	c	3,6	4,6	19451	b	41975	c	5,00	c	7,92	c	S
Cavaleiro 17	3,0	4,6	36741	b	135149	d	5,3	6,0	6607	a	41410	c	3,06	c	11,26	d	S
Casa Amarela-2	4,5	5,8	37751	b	165189	e	3,3	2,7	12467	b	63928	d	3,15	c	13,77	e	S
AM-25-1-1	2,8	4,2	27589	b	212775	e	4,3	6,2	6333	a	35559	c	2,30	b	14,92	e	S
Tauá-11	3,4	4,6	63811	c	150068	e	2,0	5,1	26462	b	34917	c	5,32	c	12,51	d	S
Tomate	8,0	7,7	198308		14240		2,0	1,4	99261		28888		16,53		1,19		S
Média	3,1	4,9	32380		81719		2,4	2,7	16806		34915		2,72		6,69		
Desvio padrão	0,7	0,9	16488		52390		1,1	1,8	11174		16958		1,37		4,09		
CV (%)	38%	37%	50%		55%		24%	32%	51%		39%		40%		54%		

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

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

³Classificação proposta por Oostenbrink (1966), onde S = suscetível; R = resistente.

Tabela 10. Reação de genótipos de feijão-caupi inoculados com 12000 ovos de *Meloidogyne incognita*, tendo como parâmetros, o índice de galhas (IG), população final (PF), massa fresca de raiz (MFR), nematoides por grama de raiz (NGR), fator de reprodução (FR) e avaliados em conjunto em esquema fatorial (Exp 1 e Exp 2), Brasília, Distrito Federal, Brasil, 2022.

Genótipos ¹	IG	PF ²	MFR ²	NGR ²	FR ²	Reação	
						1 ³	2 ⁴
NIL-2-genes	1,8	3120 a	0,68	4861 a	0,26 a	R	R
IT84S-2049	2,4	8827 a	1,39	7597 a	0,74 a	R	MR
IT93K-503-1	1,6	9008 a	1,96	5389 a	0,75 a	R	MR
NIL-3-genes	2,4	9186 a	0,86	10733 a	0,77 a	R	MR
Fradinho MNC-06-895-2	3,1	10292 a	0,93	7714 a	0,86 a	R	MR
Fradinho MNC-06-895-1	3,1	11513 a	1,60	8190 a	0,96 a	R	MR
EF Verde MNC05-847B-123	4,3	20384 b	1,40	23480 c	1,70 b	S	MR
VCU-Cores Pingo de ouro 1-5-14	3,8	26718 b	1,10	27459 c	2,23 b	S	MR
EDHE MNC05-835F-15	4,2	37252 c	1,11	39983 d	3,10 c	S	PR
Juazeiro-2	3,3	45626 c	2,89	14826 b	3,80 c	S	PR
Cordeiro-2	4,3	50302 c	3,01	18789 b	4,19 c	S	PR
CB46-Null	5,5	51610 c	1,17	42050 d	4,30 c	S	PR
EDHE MNC04-782F-108	4,4	52412 c	2,39	20925 b	4,37 c	S	PR
VCU-Cores Bico de ouro 1-5-11	4,3	53767 c	2,45	27709 c	4,48 c	S	PR
NIL-CB3-egg	4,5	53900 c	1,18	47111 d	4,49 c	S	PR
Fradinho MNC-06-907-29	4,7	55343 c	2,28	28783 c	4,61 c	S	S
EF Verde MNC99-541F-15	4,4	57221 c	2,61	17455 b	4,77 c	S	S
MLB-159	3,5	60479 c	2,16	22963 c	5,04 c	S	S
EDHE MNC01-631F-20-5	4,6	72151 c	4,91	17275 b	6,01 c	S	S
S. Benedito-5	4,1	74285 d	2,23	36272 d	6,19 d	S	S
AM-74-1	3,3	74865 c	2,93	32025 c	6,20 c	S	S
MLB-73	3,9	75929 d	4,03	29689 c	6,33 d	S	S
Cavaleiro 17	3,7	85945 d	5,54	24009 b	7,16 d	S	AS
Casa Amarela-2	5,3	101470 d	2,95	38197 d	8,46 d	S	AS
AM-25-1-1	3,5	120182 d	5,29	20946 b	9,18 d	S	AS
Tauá-11	4,0	110860 d	3,56	31074 c	9,24 d	S	AS
Tomate	7,8	87867	1,68	57037	7,32	S	AS
Média	3,8	51256	2,4	23289	4,2		
Desvio padrão	0,9	32241	1,4	11672	2,6		
CV (%)	44%	58%	26%	47%	51%		

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

²:Transformações realizadas: População final, nematoide por grama de raiz e fator de reprodução foram transformados para $\sqrt{x+0,5}$

³:Classificação proposta por Oostenbrink (1966), onde S = suscetível; R = resistente.

⁴: Classificação proposta por Moura & Régis (1987), onde AS = altamente suscetível; S = suscetível; PR = pouco resistente; MR = moderadamente resistente; R = resistente.

5.3. Correlação dos parâmetros avaliados

A dispersão entre índice de galhas (IG) e fator de reprodução (FR), massa fresca de raiz (MFR) e FR nematoides por grama de raiz (NGR) e FR é positiva na presença de *Meloidogyne javanica* (Figura 3) e *M. incognita* (Figura 4). É possível observar que quanto maior o fator de reprodução, maior é o índice de galhas, a massa fresca de raiz e nematoides por grama de raiz.

Para ambas as espécies de *Meloidogyne*, a alteração é mais acentuada no componente de índice de galhas, valor dado pela angulação da reta, seguido por NGR e por último MFR (Figura 3).

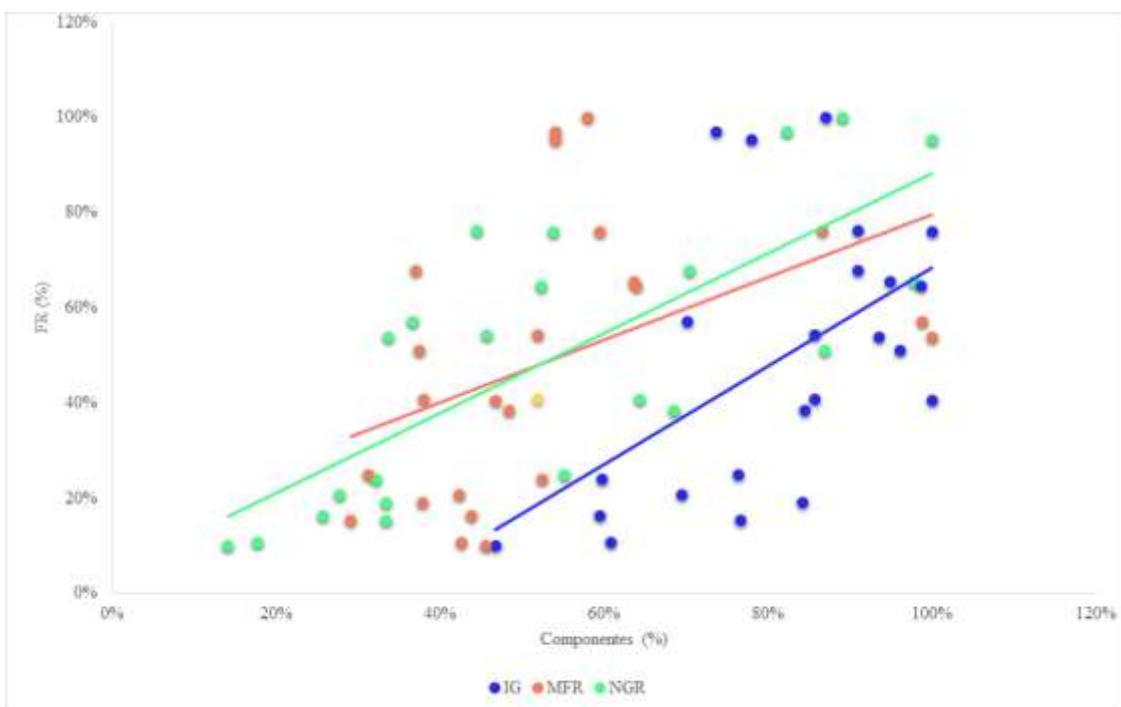


Figura 3. Gráfico de dispersão dos componentes de avaliação para *Meloidogyne javanica*: índice de galhas (IG), massa fresca de raiz (MFR) e nematoides por grama de raiz (NGR) em comparação com o fator de reprodução (FR).

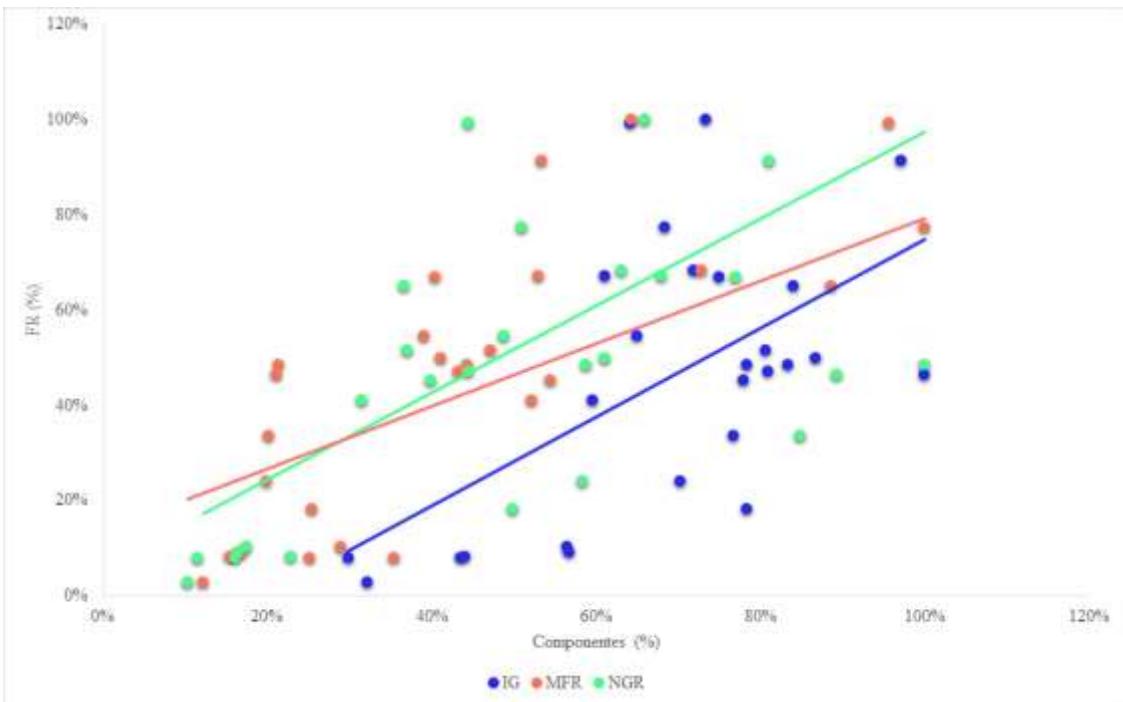


Figura 4. Gráfico de dispersão dos componentes de avaliação para *Meloidogyne incognita*: índice de galhas (IG), massa fresca de raiz (MFR) e nematoides por grama de raiz (NGR) em comparação com o fator de reprodução (FR).

O coeficiente de correlação entre os dados apresentados nas figuras 3 e 4 estão representados na Figura 5.

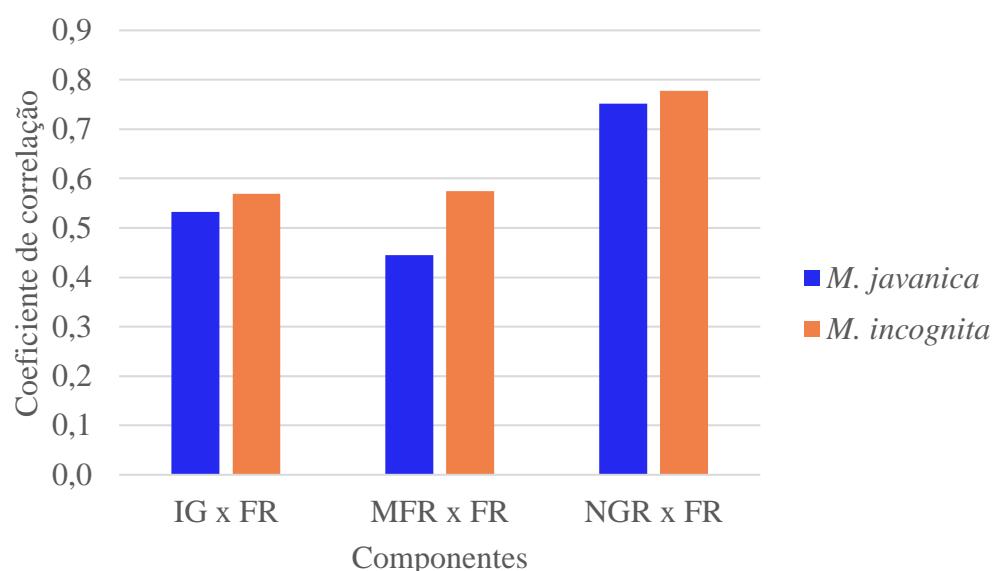


Figura 5. Coeficiente de correlação entre os componentes (IG, MFR e NGR) e fator de reprodução entre os patógenos *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*.

As correlações apresentaram altos valores variando de 0,44 a 0,78, onde os maiores valores foram das médias dos experimentos contendo *M. incognita*. A melhor correlação foi encontrada entre nematoídes por grama de raiz e fator de reprodução, com valores de 0,78 para *M. incognita* e 0,75 para *M. javanica*. Na correlação entre a massa fresca de raiz e fator de reprodução ocorreu diferença de 23 % entre os patógenos estudados.

6. DISCUSSÃO

Os resultados desse estudo trazem informações sobre o patossistema feijão-caupi/nematoides-das-galhas e possíveis fontes de resistência a *M. incognita* e *M. javanica* contribuindo para os programas de melhoramento genético.

A viabilidade dos inóculos foi confirmada pela agressividade apresentada nos genótipos padrões para susceptibilidade CB46 - Null e tomate cv. ‘Santa Clara’, com FRs de 2,13 e 5,21 na presença de *M. javanica* e 4,30 e 7,32 para *M. incognita*, respectivamente. Em outros estudos, ao utilizar CB46 - Null e tomate cv ‘Santa Clara’ a resposta foi semelhante para ambas as espécies de *Meloidogyne*. Dias (2020) obteve FR entre 1,4 e 2,3 em CB46 – Null e 2,3 e 12,0 em tomate. Nos estudos de Silva (2021) FR entre 3,43 e 9,0 para CB46 - Null e FR de 5,5 e 11,2 no tomate. O comportamento do genótipo CB46 – Null era esperado por ter surgido do cruzamento da cultivar Chinese Red (altamente suscetível) e CB46 (resistente) (Santos *et al.*, 2018).

As 20 linhagens provenientes do BAG da Embrapa Meio-Norte foram testadas e duas apresentaram resistência a *M. incognita* (MNC-06-895-1 e MNC-06-895-2), além disso, uma dessas também indicou resposta a *M. javanica* (MNC-06-895-1), resultando em fonte de resistência para duas espécies de *Meloidogyne*. O genótipo MNC-06-895-1 também apresentou resposta de resistência a *M. incognita* no estudo de Silva (2021). Os obstáculos em encontrar acessos de feijão-caupi resistentes estão associados à distribuição desses patógenos e ampla utilização de variedades suscetíveis em campos infestados, aumentando sua população a cada safra (Seid *et al.*, 2015; Dias, 2020). A comunidade científica trabalha efetivamente para obtenção desses materiais efetivos ao controle de nematoide-das-galhas, exemplo disso é na Universidade da Califórnia – Riverside que detém alguns acessos resistentes a *M. incognita* e *M. enterolobii* na sua coleção, o último em menor número (Dareus *et al.*, 2021).

Outra cultivar que apresentou comportamento de resistência a *M. javanica* foi a nigeriana IT93K-503-1, resistência observada por Dias (2020), com FR = 0,54 e Silva (2021) FR = 0,24. Tal cultivar vem sendo considerada em outros estudos por apresentar características de resistência a outros patógenos como o *Fusarium* e a *Macrophomina* (Huynh *et al.*, 2015; 2018). Embora consideradas resistentes por Ndeve *et al.* (2018) para *M. javanica*, a cultivar nigeriana IT84S-2049 (genes *RkRk/Rk²Rk²/QRk-vu9.1*), NIL-2-genes (*RkRk/QRk-vu9.1*) e NIL-3-genes (*RkRk/QRk-vu9.1/cb3*) apresentaram FR médio das duas épocas de avaliações de 1,32, 2,05, 1,63, respectivamente, confirmando reação de suscetibilidade, assim como encontrado por Silva (2021).

As cultivares NIL-2-genes (genes *RkRk/QRk-vu9.1*), IT84S-2049 (*RkRk/Rk²Rk²/QRk-vu9.1*), IT93K-503-1 (*QRk-vu11.1*), NIL-3-genes (*RkRk/QRk-vu9.1/cb3*) obtiveram FR<1, portanto, consideradas resistentes a *M. incognita* neste estudo, assim como no estudo realizado por Silva (2021). As fontes de *Rk*, gene responsável por mecanismo de resistência pós-infecção em feijão-caupi (Das *et al.*, 2008; 2010), estão presentes em cultivares consideradas isoladas e puras, dessa forma, podem seguramente ser utilizadas nos estudos de melhoramento para o desenvolvimento de novas cultivares resistentes (Fery & Dukes, 1980). Além disso, cultivares com a presença de outros genes além do *Rk*, como o genótipo IT84S-2049, apresentaram resistência efetiva a de populações *M. incognita* e *M. javanica Rk*-virulentas nos estudos de Roberts & Mathews (1995) e Roberts *et al.* (1996). A QTL *QRK-vu9.1* pode ter contribuído para a resposta de resistência ao inibir a produção de massa de ovos pelas fêmeas de *Meloidogyne* (Santos *et al.*, 2018).

Nos testes com *M. javanica*, os genótipos MNC-06-895-1, MNC-06-895-2, NIL-2-genes e IT93K-503-1, apresentaram IG<4. Para *M. incognita*, alguns dos genótipos que apresentaram IG nessa faixa foram os mesmos que obtiveram FR<1. Desta forma, genótipos com IG<4 podem ocasionar menores danos no desenvolvimento radicular das plantas, segundo Bridge & Page (1980).

Quando avaliado o NGR para ambas as espécies, as linhagens MNC-06-895-2 e MNC-06-895-1, e apenas para *M. javanica* o genótipo Fradinho MNC-06-907-29 se enquadram no mesmo grupo estatístico e obtiveram os menores valores, demonstrando características de tolerância e produção efetiva de raízes, que possivelmente poderão ser empregadas em áreas com baixas populações do patógeno, apesar de não ter ocorrido mensuração de produtividade.

As maiores massas de raízes foram encontradas em genótipos com maior susceptibilidade para ambas as espécies estudadas de *Meloidogyne*, devido à formação de galhas interferir no peso das raízes. Demonstrado por Siengchin *et al.* (2020), o feijão-mungo teve maiores pesos de raízes onde o inóculo de *M. incognita* estava em maior número, ocorrendo o mesmo resultado ao observar raízes de pepino (Mukhtar & Kayani, 2020). Quando há populações muito elevadas, o efeito de aumento de peso de raízes pode ser o oposto, gerando grande deterioração da parte radicular, como explica Belan *et al.* (2011).

Os índices de doenças obedeceram a padrões quanto as linhagens com reação de resistência para as espécies *M. javanica* e *M. incognita*. No entanto, as linhagens com maiores índices de galhas para *M. javanica* não foram as mesmas para *M. incognita*, evidenciando que os genes de resistência no genoma do feijão-caupi podem expressar diferentes níveis de reações de suscetibilidade para diferentes espécies do patógeno.

As linhagens resistentes a ambos os patógenos possuem semelhanças com os genótipos resistentes usados como controle, desta forma, é possível que possuam o gene *Rk* em seu genoma. No entanto, a linhagem MNC-06-895-1, que apresentou resistência para as duas espécies, pode apresentar outro gene além do citado, haja vista que o gene *Rk* não possui muita efetividade, se sozinho, para *M. javanica*. Estudos envolvendo genotipagem dos genótipos resistentes irão auxiliar o entendimento de possíveis novos genes e sua localização nos cromossomos do feijão-caupi (Santos *et al.*, 2018).

Os ganhos de atividades parasitárias e adaptações a diferentes meios explicam a ampla gama de hospedeiros, distribuição mundial e grandes impactos econômicos de *M. incognita*.

(Koutsovoulos *et al.*, 2019). A presença de elementos transponíveis pode gerar algum tipo de adaptabilidade a diferentes ambientes, e esses elementos podem estar em diferentes números de cópias em cada população (Kozlowski *et al.*, 2020).

Caracterizar as culturas e cultivares quanto à resistência a doenças, e conhecer as espécies fitopatogênicas das áreas de cultivo são pontos essenciais para um bom planejamento agrícola. Petrillo & Roberts (2005) encontraram variação genética em populações de nematoides partenogenéticos mitóticos, com isolados virulentos para os genes Rk e Rk², implicando na necessidade de não usar uma única fonte de resistência em campos infestados com nematoide-das-galhas. Isolados que alcançaram percentagem de virulência no gene Rk no valor de 75% foram colocados em tomate suscetível, caindo a virulência para 4% em 25 gerações. A piramidação dos genes Rk e Rk² em uma mesma cultivar foi eficiente nos estudos de Petrillo & Robers (2005), assim como, a combinação de isolinhas de alelos em QRk-vu9.1 e QRk-vu11.1 (Santos *et al.*, 2018), sendo importante informação para a rotação de cultivares de feijão-caupi.

No futuro, a descoberta de genes de resistência e o entendimento de seu mecanismo de ação são indispensáveis ao desenvolvimento de novas variedades de feijão-caupi com alto teto produtivo e resistentes ao nematoides-das-galhas, favorecendo a ampla distribuição dessa cultura em áreas agrícolas brasileiras. O presente estudo fornece conhecimento de fonte de resistência de linhagens de feijão-caupi, que podem contribuir com programas de melhoramento, tecnologia que poderá ser facilmente empregada devido a seu baixo custo e impacto ambiental reduzido. A diversidade genética e resistência dentre as linhagens estudadas abrem caminho para estudos de mapeamento de genes associados à resistência.

7. CONCLUSÕES

A linhagem MNC-06-895-1 apresentou reação de resistência a *M. incognita* e *M. javanica*.

A linhagem MNC-06-895-2 mostrou-se resistente a *M. incognita*, mas suscetível a *M. javanica*.

As linhagens MNC05-847B-123 e Pingo de ouro 1-5-14 apresentaram reação moderada para resistência a *M. incognita*. MNC-06-907-29 foi considerada pouco resistente para *M. javanica*. Casa Amarela-2 mostrou-se altamente suscetível para as duas espécies de *Meloidogyne*.

8. 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.
- ABD-EL-KHAIR, H.; EL-NAGDI, W.M.A. YOUSSEF, M.M.A.; ABD-ELGAWAD, M.M.M.; DAWOOD, M.G. 2019. Protective effect of *Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, and *Pseudomonas fluorescens* isolates against root knot nematode *Meloidogyne incognita* on cowpea. *Bulletin of the National Research Centre* 43:64.
- 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.
- ABREU, B.B.; BARROS, N.V.A.; ARAÚJO, M.A.M; ROCHA, M.M., MOREIRA-ARAÚJO, R.S.R. 2019. Compostos fenólicos e atividade antioxidante em cultivares biofortificadas de feijão-caupi antes e depois do cozimento. Congresso Nacional de Feijão-caupi – V Conac, Fortaleza, Ceará, 5p.
- 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.
- AGRIOS, G.N. 2005. *Plant Pathology*, 5th 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. Acesso em: 05 de maio de 2022.
- ALEXANDRATOS, N.; BRUINSMA, J. 2012. World Agriculture Towards 2030/2050: The 2012 Revision. ESA Working paper No. 12-03. FAO, Rome.
- 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 Applied Genetics* 106(3):478-84.

- 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.
- 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.
- ASMUS, G.L.; RICHETTI, A. 2010. Rotação de culturas para o manejo do nematoide reniforme em algodoeiro. Embrapa Agropecuária Oeste, 28p.
- 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.
- ATKINS, S.; HIDALGO-DIAZ, L.; KALISZ, H.; MAUCHLINE, T.; HIRSCH, P.; KERRY, B. 2003. Development of a new management strategy for the control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in organic vegetable production. Pest Management Science 59:183-189.
- BAWA, J.; MOHAMMED, I.; LIADI, S. 2014. Nematicidal effect of some plants extracts on root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*) of tomato (*Lycopersicon esculentum*). World Journal of Life Science and Medical Research 3:81-87
- BEDENDO, I. P.; MASSOLA JÚNIOR, N. S.; AMORIM, L. 2018. Controle cultural e físico de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIM FILHO, A. (Eds). Manual de Fitopatologia. Editora Agronômica Ceres Ltda, Ouro Fino-MG, p. 275- 288.
- 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.
- BELLAFIORE, 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. In: SHAH, M.M.; MAHAMOOD, M. (Eds). Nematology - Concepts, Diagnosis and Control. IntechOpen, London192 p.

- BEZERRA, A.A.C.; NEVES, A.C.; ALCÂNTARA NETO, F.; SILVA JÚNIOR, J.V.; COSTA, R.M.; BRITO, L.C.R. 2020. Capítulo 15: Morfofisiologia e produção de feijão-caupi, Cultivar BRS Novaera, em função da densidade de plantas. In: SILVAMATOS, R.R.; OLIVEIRA, P.S.T.; PEREIRA, R.Y.F. (Eds). Ciências agrárias: Conhecimentos científicos e técnicos e difusão de tecnologias 2. Atena, Ponta Grossa, PR, p. 165-175.
- BONETI, J.I.S.; FERRAZ, S. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exígua* de raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira 6:553.
- 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.
- CAI, D.; KLEINE, M.; KIFLE, S.; HARLOFF, H.J.; SANDAL, N.N.; MARCKER, K.A.; KLEIN-LANKHORST, R.M.; SALENTIJN, E. M.; LANGE, W.; STIEKEMA, W.J.; WYSS, U.; GRUNDLER, F.M.; JUNG, C. 1997. Positional cloning of a gene for nematode resistance in sugar beet. Science 275 (5301):832-834.
- CASTAGNONE-SERENO, P.; MULET, K.; DANCHIN, E.G.J.; KOUTSOVOULOS, G. D.; KARAULIC, M.; DA ROCHA, M.; BAILLY-BECHET, M.; PRATX, L.; PERFUS-BARBECH, 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.
- CHEN, Z.; DICKSON, D. 1998. Review of *Pasteuria penetrans*: Biology, ecology, and biological control potential. Journal of Nematology 30:313-340.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. 2022. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. Décimo segundo levantamento. 88 p. Disponível em <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em 10 de outubro de 2022.
- DAREUS, R.; PORTO, A.C.M.; DIGENNARO, P. BOGALE, M.; CHASE, C.A.; RIOS, E.F. 2021. Resistance to *Meloidogyne enterolobii* and *Meloidogyne incognita* in cultivated and wild cowpea. Hort Science 56 (4):460-468.
- 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.

- DAS, S.; EHLERS, J.D.; CLOSE, T.J.; ROBERTS, P.A. 2010. Transcriptional profiling of root-knot nematode induced feeding sites in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) using a soybean genome array. *BMC Genom* 11:480.
- 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.
- 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*. Taylor and Francis, London. p. 1–30.
- 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-ARIEIRA, C.R.; FURLANETTO, C.; SANTANA, S.M.; BARIZÃO, D.A.O.; RIBEIRO, R.C.F.; FORMENTINI, H.M. 2010. Fitonematoídes 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 e Me4 conferring heat-stable resistance to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). *Theoretical Applied Genetics* 103:592-600.
- EHLERS, J.D.M.W.; HALL, A.E.; ROBERTS P.A. 2002. In: FATOKUN C.A.T.S.; SINGH, B.B.; KORMAWA, P.M.; TAMO, M. (Eds). Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production, Proceedings of the World Cowpea Conference III held at the International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Nigeria, Ibadan, p. 41–51
- 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.
- CAILLAUD, M.C.; DUBREUIL, G.; QUENTIN, M.; PERFUS-BARBECH, L. LECOMTE, P.; ENGLER, J.A.; ABAD, P.; ROSSO, M.N.; FAVERY, B. 2008. Root-

- knot nematodes manipulate plant cell functions during a compatible interaction. *Journal of Plant Physiology* 165:104-113.
- ESBENSHADE, P.R.; TRIANTAPHYLLOU, A.C. 1990. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 22:10-15.
- FAVERY, B. QUENTIN, M.; JAUVERT-POSSAMAI, S.; ABAD, P. 2016. Gall-forming root-knot nematodes hijack key plant cellular functions to induce multinucleate and hypertrophied feeding cells. *Journal of Insect Physiology* 84:60–69.
- 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, p. 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.
- FLOR, H.H. 1956. The complementary genic systems in flax and flax and flax rust. *Advances in Genetics* 8:29-54.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). 2020. FAOStat, World Production. Disponível em: <<http://www.fao.org/>>. Acesso em: 27 julho de 2022.
- FRANÇOIS, P.; SIZARET, F. 1981. Protein intake threatened by uncertain supply. Pulse consumption in Brazil. *Food and Nutrition* 7:11-18.
- 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-caipi (*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-caipi no Brasil. Teresina, Embrapa Meio-Norte. 84p.
- FROTA, K.G.; MORGANO, M.A.; SILVA, M.G. da. 2008. Utilização da farinha de feijão-caipi (*Vigna unguiculata* L. Walp) na elaboração de produtos de panificação. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Teresina.
- GAO, H.; QI, G.; YIN, R.; ZHANG, H.; LI, C.; ZHAO, X. 2016. *Bacillus cereus* strain S2 shows high nematicidal activity against *Meloidogyne incognita* by producing sphingosine. *Scientific Reports* 6:28756.

- HOFFMANN, A.A.; REYNOLDS, K.T.; NASH, M.A.; WEEKS A.R. 2008. A high incidence of parthenogenesis in agricultural pests. Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 275: 2473-2481.
- 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.
- HUNT, D.J.; HANDOO, Z.A. 2009. Taxonomy, identification and principal species. In: PERRY, R.N., M. MOENS; J.L. STARR (Eds). Root-Knot Nematodes. CABI, Wallingford, p. 55-97.
- HUSSEY, R.S.; BARKER, K.R.; 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant. Dis. Rep. 57: 1025-1028.
- HUYNH, B.; EHLERS, JD.; HUANG, B. E.; MUÑOZ-AMATRIAÍN, M.; LONARDI, S.; SANTOS, J.R.P.; NDEVE, A.; BATIENO, B.J.; BOUKAR, O.; CISSE, N.; DRABO, I.; FATOKUN, C.; KUSI, F.; AGYARE, R.Y.; GUO, Y.; HERNITER, I.; LO, S.; WANAMAKER, S.I.; XU, S.; CLOSE, T.J.; ROBERTS, P.A. 2018. A multi-parent advanced generation inter-cross (*MAGIC*) population for genetic analysis and improvement of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) Plant Journal 93:1129-1142.
- 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.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2017. Censo Agropecuário 2017. Disponível em <https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/agricultura.html?localidade=0&tema=76464>. Acesso em 05 de maio de 2022.
- IZUOGU, N.B.; OLAJIDE, T.U.; EIFEDIYI, E.K. OLAJIDE, C.M. 2019. Effect of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on the nodulation of some varieties of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). Scientia agriculturae bohemica 50 (2):104–109.
- JAFFEE, B.; PEARSON, D.; TIMM, L. 2001. Nematode- trapping fungi in conventionally and organic managed corn-tomato rotations. Mycologia 93:25-29.

- 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, A.; SAYED, M.; SHAUKAT, S.; HANDOO, Z. 2008. Efficacy of four plant extracts on nematodes associated with papaya in Sindh, Pakistan. Nematologia Mediterranea 36:93-98.
- KOKALIS-BURELLE, N. 2015. *Pasteuria penetrans* for control of *Meloidogyne incognita* on tomato and cucumber and *M. arenaria* on snapdragon. Journal of Nematology 47:207-213.
- 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.
- 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, FJ.; 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.
- MENEZES, A.M.F.; CAVALCANTI JÚNIOR, E.A.; MARTINS, L.S.S.; MORAES FILHO, R.M. 2019. In silico characterization of *Meloidogyne* genus nematode cellulose binding proteins. Brazilian Archives of Biology and Technology 62: e19180120.

- MILLIGAN, S.B.; BODEAU, J.; YAGHOOBI, 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(8):1307-1319.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. 2014. Instrução normativa conjunta nº 1, de 16 de junho de 2014. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/legislacao/arquivos-de-legislacao/inc-01-2014-csfi/view>>. Acesso em 05 de maio de 2022.
- MITKOWSKI, N.A, ABAWI, G.S. 2003. Root-knot nematodes. *The Plant Health Instructor*. Disponível em: <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/nematode/pdlessons/Pages/RootknotNematode.aspx>. Acesso em 05 de maio de 2022.
- 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.
- 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. Postinfectional development of *Meloidogyne incognita* on susceptible and resistant soybean genotypes. *Nematoropica* 23:7–13.
- MOURA, R.M.; E.M.O. RÉGIS. 1987. Reações de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) em relação ao parasitismo de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* (Nematoda: Heteroderidae). *Nematologia Brasileira* 11:215-225.
- MUKHTAR, T.; HUSSAIN, M. A.; KAYANI, M.Z.; ASLAM, MN. 2014. Evaluation of resistance to root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in okra cultivars. *Crop Protection* 56: 25–30.
- MUKHTAR, T.; KAYANI, M.Z. 2020. Comparison of the damaging effects of *Meloidogyne incognita* on a resistant and susceptible cultivar of cucumber. *Plant protection*. 79(1): 83-93
- 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.
- NDEVE, A.D.; SANTOS, J.R.P.; MATTHEWS, W.C.; HUYNH, B.L.; GUO, Y.; LO, S. MUNÓZ-AMATRÍAÍN, M.; ROBERTS, P.A. 2019. A novel root-knot nematode

- resistance QTL on chromosome Vu01 in cowpea. *G3 Genes Genomes Genetics* 9 (4):1199-1209.
- 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. p. 229–242.
- OKENIYI, M.; AFOLAMI, S.; FADEMI, O.; ODUWAYE, O. 2013. Effect of botanical extracts on root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) infection and growth of cashew (*Anacardium occidentale*) seedlings. *Academia Journal of Biotechnology* 1:81-86.
- 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.
- OLIVEIRA, C.M.G. 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):065-073.
- 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.
- PARLEVLIET, J.E. 1989. Identification and evaluation of quantitative resistance. In: LEONARD, K.J.; FRY, W.E. (Eds.), *Plant Disease Epidemiology*, vol. 2. McGraw-Hill, New York, p. 215–248.
- PERRY, R.N.; GAUR, H.S. 1996. Host plant influence on the hatching of cyst nematodes. *Fundamental Applied Nematology* 19:1-6.
- 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.
- PETRILLO, M.D.; MATTHEWS, W. C.; ROBERTS, P.A. 2006. Dynamics of *Meloidogyne incognita* virulence to resistance genes Rk and *Rk²* in cowpea. *Journal of Nematology* 38(1):90-96.
- PONTE, J.J. 1987. Os nematóides do caupi e sua importância. *Nematologia Brasileira* 11:36-40.
- 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.

- RIBEIRO, G.D.; MOTA, A.P.Z.; SANTOS, I.R.; ARRAES, F.B.M.; GRYNBERG, P. FONTES, W.; CASTRO, MS.; SOUSA, M. V.; LISEI-DE-SÁ, M.E.; GROSSI-DE-SÁ, M.F.; FRANCO, O.L.; MEHTA, A. 2022. NBS-LRR-WRKY genes and protease inhibitors (PIs) seem essential for cowpea resistance to root-knot nematode. *Journal of Proteomics* 261:104575.
- 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.
- 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.; VAKKER, J.; SMANT, G. 2008. Mining the secretome of the root-knot nematode *Meloigogyne chitwoodi* for candidate parasitism genes. *Molecular Plant Pathology* 9 (1):1-10.
- SANTOS, R.S. 2016. Nematoides associados a cinco fruteiras em Rondônia, RO. *Revista de Agricultura* 91(1):101-110.
- 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.
- SASSER, J.N. 1980. Root-knot nematodes: a global menace to crop production. *Plant Disease* 64:3641.
- SASSER, J.N.; FRECKMAN, D.W. 1987. A world perspective on nematology: the role of the society. In: VEECH, J.A.; DICKSON, D.W. (Eds). *Vistas on nematology*. Society of Nematologists Inc, Hyattsville, USA., p. 7–14.
- 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.; RUANPANUN, P.; SOMTA, P. 2020. Damage potential of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita* Chitwwod) population density on plant growth

- parameters related to plant age of mung bean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). J. ISSAAS. 26 (1):111-122.
- SILVA, G.S. 2000. Ocorrência e controle de fitonematóides no feijão caupi no Meio-Norte do Brasil. In: CARDOSO, M.J. (Ed.). A cultura do feijão caupi no Meio-Norte. Teresina, Brazil, Embrapa Meio-Norte, p. 229-236.
- SILVA, T.F. 2021. Seleção de genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) resistentes ao nematoide-das-galhas. Dissertação. Universidade de Brasília, Departamento de Fitopatologia, 68p.
- SIQUEIRA, K.M.S.; INOMOTO, M.M. 2008. Pathogenicity and reproductive fitness of *Pratylenchus brachyurus* on cowpea. Nematology 10:495-500.
- 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.
- 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.
- TESTEN, A.L.; ROTONDO, F.; MILLS, M.P. HORVAT, M.M.; MILLER, S.A. 2021. Evaluation of agricultural byproducts and cover crops as anaerobic soil disinfestation carbon sources for managing a soilborne disease complex in high tunnel tomatoes. Frontiers in Sustainable Food Systems 5:645197.
- 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.
- VIANENE, N.M.; ABAWI, G.S. 2000. *Hirsutella rhossiliensis* and *Verticillium chlamydosporium* as biocontrol agents of the root-knot nematode *Meloidogyne hapla* on lettuce. Journal of Nematology 32(1):85–100.
- 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.; LIHARSHA, T.; HONTELEZ J.; ZABEAU, M. 1998.

The tomato *Mi-1* gene confers resistance to both root-knot nematodes and potato aphids. *Nature Biotechnology*, v. 16: 1365-1369.

XIONG, J.; ZHOU, Q.; LUO, H.; XIA, L.; LI, L.; SUN, M.; YU, Z. 2015. Systemic nematicidal activity and biocontrol efficacy of *Bacillus firmus* against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 31:661-667.

WANG, G.; MCGIFFEN, M.E.; EHLERS, J.D.; MARCHI, E.C.S. 2006. Competitive ability of cowpea genotypes with different growth habit. *Weed Science* 54(4):775-778.

WEIBELZAHL-FULTON, E.; DICKSON, D.; WHITTY, E. 1996. Suppression of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* by *Pasteuria penetrans* in field soil. *Journal of Nematology* 28:43-49.

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

WORLD POPULATION PROSPECTS. 2022. Population division 2022. Disponível em < <https://population.un.org/wpp/>>. Acesso em 05 de outubro de 2022.

YAGHOobi, 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. *Mol Genet Genomics* 274(1):60-9.

YOUSSEF, M.M.A.; EL-NAGDI, W.M.A. 2021. New approach for biocontrolling root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on cowpea by commercial fresh oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Jordan Journal of Biological Sciences* 14(1):173-177

YOUSSEF, M.M.A.; EL-NAGDI, W.M.A.; LOTFY, D.E.M. 2020. Evaluation of the fungal activity of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces lilacinus* as biocontrol agents against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on cowpea. *Bulletin of the National Research Centre* 44:112.