



UnB

Universidade de Brasília

Instituto de Ciências Biológicas

Departamento de Fitopatologia

**Seleção de acessos de feijão-caupi resistentes ao nematoide das galhas
(*Meloidogyne* spp.)**

MICHELINE DO AMARAL DIAS

Brasília – DF

2020

MICHELINE DO AMARAL DIAS

Seleção de acessos de feijão-caupi resistentes ao nematoide das galhas
(*Meloidogyne* spp.)

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

Orientador

Prof. Robert Neil Gerard Miller, Título.

Co-orientador

Dr. Jansen R. P. Santos, Título

BRASÍLIA
DISTRITO FEDERAL - BRASIL

2020

FICHA CATALOGRÁFICA

Dias, Micheline do Amaral.

Seleção de acessos de feijão-caupi resistentes ao nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.)/Micheline do Amaral Dias.

Brasília, 2020.

Número de páginas p.59: il.

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

1. *Meloidogyne enterolobii* - *Meloidogyne incognita* – *Meloidogyne javanica*.

I. Universidade de Brasília. PPG/FIT.

II. Seleção de acessos de feijão-caupi resistentes a *Meloidogyne* spp..

Aos meus avós Maria Camila e Baltazar Basílio, dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus por sempre guiar meus passos e me abençoar com Sua infinita bondade.

Agradeço à minha família. Especialmente à minha mãe, por me apoiar nas decisões tomadas, e por me fazer acreditar na minha capacidade.

Agradeço aos meus avós Maria Camilo de Castro e Baltazar Basílio do Amaral, por sempre acreditarem nos meus sonhos.

Agradeço à Universidade de Brasília pela oportunidade em me fazer mestre em Fitopatologia.

Agradeço ao meu orientador Robert Neil Gerard Miller por suas sábias orientações.

Agradeço ao meu co-orientador Jansen R. P. Santos pela orientação e disponibilidade em me ensinar.

Agradeço aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade de Brasília.

Agradeço a todos os membros da banca, por estarem presentes e contribuírem com meu trabalho.

Agradeço a todos os funcionários da Estação Experimental de Biologia/UnB, em especial ao Deusdete e o Aguinaldo, pela dedicação e disponibilidade.

Agradeço aos alunos da disciplina de Pesquisa: Rebecca Mesquita, Amanda Gomes, Muriene Lourenço e Marta Almeida pela ajuda na coleta os dados.

Agradeço ao CNPq por financiar minha bolsa nesses dois anos de mestrado.

Trabalho realizado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação do Prof. **Robert Neil Gerard Miller**, com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

**Seleção de acessos de feijão-caupi resistentes ao nematoide das galhas
(*Meloidogyne* spp.).**

MICHELINE DO AMARAL DIAS

DISSERTAÇÃO APROVADA em 27/02/2020 por:

Dr. Jadir Borges Pinheiro
(Examinador externo)

Dra. Vanessa da Silva Mattos
(Examinador externo)

Prof. Robert Neil Gerard Miller
Orientador (Presidente)

BRASÍLIA – DISTRITO FEDERAL
BRASIL
2020

SUMÁRIO

Lista de tabelas.....	viii
Lista de figuras.....	ix
Resumo.....	x
Abstract	xii
1. Introdução	14
2. Referencial teórico.....	17
2.1 Importância econômica do feijão-caupi.....	17
2.2 Classificação, Origem e distribuição do feijão-caupi.....	17
2.3 Aspectos fitossanitários associados ao feijão-caupi.....	18
2.4 Nematoides associados ao feijão-caupi.....	18
2.5 Gênero <i>Meloidogyne</i> Goeldi (1887).....	19
2.6 Ciclo de vida de <i>Meloidogyne</i> spp.....	20
2.7 Espécies importantes de <i>Meloidogyne</i> spp.....	20
2.8 Manejo de nematoides na cultura do feijão-caupi.....	22
2.9 Resistência genética em feijão-caupi.....	22
3. Material e Métodos	25
3.1 Identificação de gêneros de fitonematoides.....	25
3.1.1 Identificação à nível de espécie para o gênero <i>Meloidogyne</i>	25
3.2 Seleção de fontes de resistência em feijão-caupi.....	26
3.2.1 Local e delineamento experimental.....	26
3.2.2 Inoculação e avaliação.....	29
3.3 Análise estatística.....	30
4. Resultados.....	31
4.1 Gêneros de nematoides identificados em regiões produtoras de feijão-caupi.....	31
4.1.1 Identificação bioquímica de espécies de <i>Meloidogyne</i> spp.....	33
4.2 Seleção para resistência à <i>Meloidogyne</i> spp.....	34
4.2.1 Índice de galhas.....	34
4.2.2 Resultados obtidos para Fator de Reprodução.....	38
4.2.3 Análise de correlação entre IG e FR para <i>M. incognita</i> e <i>M. enterolobii</i>	47
5. Discussão.....	48
6. Conclusão.....	52
7. Referências Bibliográficas.....	53

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Cultivares e isolinhas de feijão-caupi utilizadas no experimento e a reação para <i>M. incognita</i> , <i>M. enterolobii</i> e <i>M. javanica</i>	28
TABELA 2. Identificação de gêneros de fitonematoides em amostras coletadas de campos de produção de feijão-caupi em diferentes regiões do Brasil.....	32
TABELA 3. Reação de acessos de feijão-caupi inoculado com 12.000 ovos e eventuais juvenis de <i>M. enterolobii</i> , baseada no índice de galhas (IG), Peso da raiz (PFR), Nematoides por grama de raiz (NGR), Fator de reprodução (FR), Redução do FR (%RFR) e População Final (PF) do bioensaio 1.....	40
TABELA 4. Reação de acessos de feijão-caupi inoculado com 12.000 ovos e eventuais juvenis de <i>M. enterolobii</i> , baseada no índice de galhas (IG), Peso da raiz (PFR), Nematoides por grama de raiz (NGR), Fator de reprodução (FR), Redução do FR (%RFR) e População Final (PF) do bioensaio 2.....	41
TABELA 5. Reação de acessos de feijão-caupi inoculado com 12.000 ovos e eventuais juvenis de <i>M. incognita</i> , baseada no índice de galhas (IG), Peso da raiz (PFR), Nematoides por grama de raiz (NGR), Fator de reprodução (FR), Redução do FR (%RFR) e População Final (PF) do bioensaio 1.....	43
TABELA 6. Reação de acessos de feijão-caupi inoculado com 12.000 ovos e eventuais juvenis de <i>M. incognita</i> , baseada no índice de galhas (IG), Peso da raiz (PFR), Nematoides por grama de raiz (NGR), Fator de reprodução (FR), Redução do FR (%RFR) e População Final (PF) do bioensaio 2.....	44
TABELA 7. Reação de acessos de feijão-caupi inoculado com 10.000 ovos e eventuais juvenis de <i>M. javanica</i> , baseada no índice de galhas (IG), Peso da raiz (PFR), Nematoides por grama de raiz (NGR), Fator de reprodução (FR), Redução do FR (%RFR) e População Final (PF) do bioensaio 1.....	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Seleção de genótipos de feijão-caupi para resistência a <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>M. javanica</i> e <i>M. enterolobii</i> , 45 dias após a inoculação.....	27
Figura 2. Perfil isoenzimático de esterase observado para <i>M. incognita</i> (Est I2).....	33
Figura 3. Perfil isoenzimático de esterase observado para <i>M. enterolobii</i> (Est M2).....	34
Figura 4. Exemplos de notas atribuídas à raízes de feijão-caupi após inoculação com <i>M. enterolobii</i>	35
Figura 5. Exemplos de notas atribuídas à raízes de feijão-caupi após inoculação com <i>M. incognita</i>	36
Figura 6. Índice de galhas para os dois bioensaios realizados para <i>M. enterolobii</i>	37
Figura 7. Índice de galhas para os dois bioensaios realizados para <i>M. incognita</i>	37
Figura 8. Índice de galhas para o bioensaio realizado para <i>M. javanica</i>	38
Figura 9. Análise de correlação entre os experimentos 1 e 2 para <i>M. enterolobii</i> e <i>M. incognita</i> , utilizando índices de galhas e os fatores de reprodução. Correlação de Pearson (r), $p \leq 0,05$	47

RESUMO

DIAS, Micheline do Amaral. Seleção de acessos de feijão-caupi resistentes ao nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.). 2020. 59p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, DF.

O feijão-caupi membro da família Fabaceae, pertencente ao gênero *Vigna* e espécie *Vigna unguiculata*. Seus grãos são usados principalmente na alimentação humana, possuem alto valor nutritivo, com grande quantidade de proteína (cerca de 23%), vitaminas, fibras e aminoácidos essenciais. O gênero *Meloidogyne*, conhecido como nematoide das galhas, compreende o maior grupo de fitonematoides, causando grandes perdas anuais mundialmente. O gênero é composto por aproximadamente 100 espécies com alto grau de polifagia, parasitando cerca de 2.000 espécies botânicas. O feijão-caupi é suscetível ao nematoide das galhas (NG) e a busca por genótipos promissores em resistência genética, se faz necessária para melhorar as condições de cultivo e de comercialização dos grãos. Atualmente são conhecidos alguns genes envolvidos na resistência genética para algumas espécies do gênero *Meloidogyne*, como os genes RK e RK². Tendo em vista essa resistência já conhecida, o objetivo do presente trabalho foi conhecer os gêneros de fitonematoides que ocorrem em campos de cultivo de feijão-caupi nas principais regiões produtoras do Brasil, identificar a nível de espécie nematoides do gênero *Meloidogyne*, preparar e manter culturas puras das diferentes populações de *Meloidogyne* e seleção de fontes de resistência de feijão-caupi às espécies *M. enterolobii* e *M. incognita*. Para isso, foram feitas coletas em diversas regiões produtoras de feijão-caupi no Brasil e a identificação dos nematoides a nível de gênero foi feita com base em caracteres morfológicos, já para nível de espécies para o gênero *Meloidogyne*, a identificação foi feita através do padrão de esterase (enzima presente nos nematoides do gênero *Meloidogyne*). A seleção de genótipos contrastantes em resistência para as espécies *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne enterolobii* foi feita em experimento com delineamento inteiramente casualizado feito em vasos de um litro cada (27 genótipos, com 6 plantas para cada genótipo e 3 repetições no tempo). Após 15 dias da semeadura, as plantas foram inoculadas separadamente com 12.000 mil ovos e eventuais juvenis de cada espécie do nematoide por planta. Sessenta dias após a inoculação, foram estimados o fator de reprodução (FR), o índice de galhas (IG) e o número de ovos por grama de raiz (NOGR). Nesta seleção foi avaliado o Fator de Reprodução para cada planta separadamente, com o objetivo de determinar a suscetibilidade ou resistência dos acessos às duas espécies de nematoides. Os genótipos BRS Fradinho e BRS Milênio mostraram-se

resistentes à *M. enterolobii* ($FR \leq 1$), já para *M. incognita*, BRS Caraguaçu, BRS Fradinho, BR 17 Gurguéia, BRS Itaim, BRS Imponente, BRS Milênio, BRS Novaera, BRS Pajeú e BRS Potengi se apresentaram como resistentes, as demais cultivares foram consideradas suscetíveis. Para *M. javanica* apenas BRS Imponente e BRS Milênio foram resistentes. A identificação de fontes comerciais de resistência às espécies prevalentes de NGR no Brasil fornece uma contribuição importante para a expansão contínua do cultivo de feijão-caupi no país, que, como uma cultura nutricionalmente importante, oferece considerável importância à segurança alimentar no século XXI.

Palavras-chave: *Meloidogyne enterolobii*, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, *Vigna unguiculata*, genes de resistência, galhas radiculares.

Orientador- Robert Neil Gerard Miller – Universidade de Brasília

ABSTRACT

DIAS, Micheline do Amaral. Seleção de acessos de feijão-caupi resistentes ao nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.). 2020. 59p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, DF.

Cowpea is a member of the Fabaceae, belonging to the genus *Vigna* and species *Vigna unguiculata*. This legume plant represents an important source of protein (about 23%), essential amino acids, vitamins and fibers, with beans used mainly for human consumption, given the high nutritional value of the crop. The genus *Meloidogyne*, known as the root knot nematode (RKN), comprises the largest group of phytonematodes, causing large annual losses worldwide. The genus is composed of approximately 100 species with a high degree of polyphagy, parasitizing around 2,000 botanical species. Commercial cowpea is susceptible to RKN species, with the identification of sources of genetic resistance necessary to improve cultivation and commercialization of the crop. A limited number of dominant genes conferring resistance to certain species of the genus *Meloidogyne* have been identified in cowpea, such as the genes RK and RK2, with introgression into commercial materials in breeding programs in other producing countries. Given such potential resistance in cowpea, the objective of the present work was to identify sources of resistance to the prevalent *Meloidogyne* species in Brazil. Phytonematode genera occurring in cowpea across the main production areas were identified at the genus level on the basis of morphological characters, whereas for species level identification for the genus *Meloidogyne*, identification was made on the basis of standard esterase enzyme profile. Cowpea germplasm collections were made across several producing regions in Brazil. The selection of contrasting resistant genotypes to the RKN species *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne enterolobii*, identified as predominant species, was carried out under greenhouse conditions following a completely randomized design experiment. A total of 27 genotypes were evaluated, with 6 plants employed for each genotype and 3 repetitions for each evaluated time point. Fifteen days after planting, each seedling plant was separately inoculated with 12,000 eggs of each nematode species. Sixty days after inoculation (DAI), the reproduction factor (RF), the gall index (GI) and the number of eggs per gram of root (NEGR) were estimated. The genotypes BRS Fradinho and BRS Milênio were identified as resistant to *M. enterolobii* ($FR \leq 1$), whereas for *M. incognita*, the genotypes BRS Caraguaçu, BRS Fradinho, BR 17 Gurguéia, BRS Itaim, BRS Imponente, BRS Milênio, BRS Novaera, BRS Pajeú and BRS Potengi displayed resistance, with all other genotypes screened considered susceptible. For *M. javanica* only BRS

Imponente and BRS Milênio displayed resistance. The identification of commercial sources of resistance to prevalent RKN species in Brazil provides an important contribution to the continued expansion of cowpea cultivation in the country, which, as a nutritionally important crop, offers considerable importance in food security for the 21st Century.

Key words: *Meloidogyne enterolobii*, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, *Vigna unguiculata*, resistance genes, root knot nematode.

Orientador- Robert Neil Gerard Miller – Universidade de Brasília

1. INTRODUÇÃO

O feijão-caupi, *V. unguiculata* (L.) Walp., é uma dicotiledonea que pertence à ordem Rosales, família Fabaceae, subfamília Papilionoideae, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolinae e ao gênero *Vigna*, o qual foi estabelecido por Savi em 1824. Embora nas primeiras classificações tenha sido alocado em outros gêneros, como *Phaseolus* e *Dolichos*, atualmente sua classificação de gênero é em *Vigna*, sendo mundialmente aceita (PHILLIPES, 1951). O feijão-caupi tem vários nomes populares, alguns dos mais conhecidos são: feijão-macassa e feijão-de-corda, na região Nordeste; feijão-de-praia, feijão-da-colônia e feijão-de-estrada, na região Norte; e feijão-miúdo, na região Sul (EMBRAPA, 2020).

O feijão-caupi é uma excelente fonte de proteínas (23% a 25%) e apresenta todos os aminoácidos essenciais, vitaminas, minerais, fibras e baixa quantidade de gordura (EMBRAPA MEIO NORTE, 2016). Dessa forma, tornou-se um dos principais componentes da dieta alimentar nas regiões Nordeste e Norte do Brasil, expandindo-se para as regiões Sudeste e Centro-Oeste, onde tem feito parte dos cultivos de safrinha após as culturas da soja e do arroz, e também, como cultura principal em algumas regiões. Na região dos cerrados, principalmente quando é cultivado em safrinha, o feijão-caupi tem um custo muito competitivo, fator que tem feito aumentar o interesse dos produtores pela cultura. Além disso, a produção é de alta qualidade, o que possibilita a aceitação do grão pelos comerciantes, agroindústrias, distribuidores e consumidores. A oferta de um produto padronizado, de alta qualidade, em quantidade e com regularidade vem despertando o interesse de agroindústrias de outras regiões e tem contribuído para a abertura de novos mercados para a cultura. Com isso, também está havendo um aumento de interesse por parte das empresas de exportação pelo produto, que já vem sendo exportado para cinco países, sendo eles Canadá, Portugal, Israel, Turquia e Índia (FILHO, 2011).

Segundo a FAOSTAT (2018), a produção mundial do feijão-caupi chegou, em 2016, a quase 7 milhões de toneladas produzidas, em uma área plantada de 12,32 milhões de hectares. De acordo com a mesma organização, o continente com maior produção desse grão é a África, sendo Nigéria, Níger e Burkina Faso os três maiores países produtores. No Brasil, de acordo com dados da CONAB (2017), a produção na safra 2016/2017 foi de 713,4 mil toneladas, com uma produtividade média de 506 kg por hectare.

A produção de feijão-caupi concentra-se nas regiões Nordeste, Norte e está se expandindo para a região Centro-Oeste, principalmente para o Estado de Mato Grosso. Na região Nordeste, a produção tradicionalmente concentra-se nas áreas semiáridas, nesta região e

também na região Norte, o cultivo é feito por empresários e agricultores familiares que ainda utilizam práticas tradicionais. Na região Centro-Oeste, onde o feijão-caupi passou a ser cultivado em larga escala a partir de 2006, a produção provém principalmente de médios e grandes empresários que praticam uma lavoura altamente tecnificada. Apesar da cultura apresentar ciclo curto, baixa exigência hídrica e rusticidade para se desenvolver em solos de baixa fertilidade e está se destaca por fixar nitrogênio em associação com bactérias do gênero *Rhizobium* (FILHO, 2011).

As doenças do feijão-caupi têm respondido por perdas expressivas no processo produtivo, sendo um dos principais fatores limitantes do cultivo racional da cultura. Os agentes causadores de doenças que ocorrem no feijão-caupi, têm causado perdas tanto em volume de produção quanto em qualidade dos grãos. Entre eles, sobressaem-se os vírus, os fungos e os nematoides como os mais importantes, tem respondido, em certas situações e locais, por danos significativos. Informações relacionadas às doenças do feijão-caupi que possuem abordagem voltada à realidade regional são escassas, fazendo com que, muitas vezes, sejam utilizadas informações e experiências pessoais para se fornecer orientações acerca das ocorrências fitossanitárias da cultura (CARDOSO, 2000).

O feijão-caupi pode ser atacado por diversas espécies de nematoides, destacando-se os nematoides *Meloidogyne* spp., *Rotylenchulus reniformis* e *Pratylenchus* spp., por ordem de importância. Os nematoides podem prejudicar o desenvolvimento das plantas por diminuir a absorção e translocação de água e nutrientes, resultante da alteração ou destruição dos tecidos das raízes e conseqüentemente diminuição do crescimento radicular (HUSSEY & WILLIAMSON, 1998; ROBERTS et al., 2004). No Brasil, *M. incognita* e *M. javanica* são as mais importantes do gênero e sua distribuição abrange toda a área de cultivo da cultura; ainda sob o aspecto de importância econômica, *P. brachyurus* deve ser mencionado, principalmente por sua distribuição geográfica e capacidade de associação com o feijão-caupi (PONTE, 1987). O nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) estão entre os que mais causam danos, ocasionando perdas de bilhões de dólares ao redor do mundo. *Meloidogyne* spp. são endoparasitas radiculares sedentários, atuando no desenvolvimento de estruturas alimentares especializadas conhecidas como células gigantes. A resistência genética das plantas hospedeiras é uma das estratégias mais atrativas para lidar com esse problema em campos infestados (EHLERS et al., 2002). Vários tipos de controle são aplicados para *Meloidogyne* spp., como o cultural, o físico, o biológico e a resistência genética, não existindo nematicidas químicos registrados para a

cultura (LIMA, 2017), tornando imprescindível a incorporação de genes de resistência em cultivares já cultivadas comercialmente, para controle dessa doença.

Diversos trabalhos mostram que a resistência ao nematoide das galhas é controlada por genes dominantes (FERY & DUKES, 1980; EHLERS et al., 2000). Entre esses genes, um gene dominante (*Rk*), efetivo contra isolados avirulentas de nematoides das galhas, foi mapeado no grupo de ligação 11 (HUYNH et al., 2016), e um outro gene também dominante (*Rk*²) foi mapeado no grupo de ligação 9 de feijão-caupi com efeito aditivo sobre o gene *Rk*, conferindo algum grau de resistência a isolados virulentos (SANTOS et al., 2018). O gene *Rk* tem sido amplamente utilizado para se produzir variedades resistentes aos nematoides das galhas em vários países. Apesar desses dois genes terem sido mapeados, ainda existe grande demanda por genes mais efetivos às populações virulentas do nematoide.

No Brasil, o programa de melhoramento da Embrapa visa aumentar a produtividade, a adaptabilidade e a estabilidade da produção; aumentar a resistência a pragas e doenças; aumentar a resistência a altas temperaturas e estresses hídricos; aumentar os teores de proteína, ferro, zinco e fibra alimentar digestível dos grãos; e desenvolver cultivares adaptadas a todas as regiões do País (FILHO, 2011). Atualmente, no entanto, não apresentam cultivares recomendadas para a produção de feijão-caupi no país com resistência ao nematoide das galhas.

Assim, o objetivo deste trabalho foi diagnosticar os problemas nematológicos com ocorrência em campos de cultivo de feijão-caupi e selecionar fontes de resistência a *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância econômica do feijão-caupi

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) é uma excelente fonte de proteínas (23% a 25% em média) e apresenta todos os aminoácidos essenciais, carboidratos (62% em média), vitaminas, minerais, fibras dietéticas e baixa quantidade de gordura (2% em média), apresentando importante papel na segurança alimentar nutricional de grande parte da população brasileira e mundial, com importante participação na geração de empregos. Porém, ainda existe carência na disponibilização de conhecimento sobre a cultura e a transferência de tecnologia que aprimore seu cultivo e produtividade (RIBEIRO, 2017). O feijão-caupi é essencial nos sistemas de produção nas regiões secas dos trópicos, que cobrem parte da Ásia, Estados Unidos, Oriente Médio, Américas Central e do Sul (SINGH et al., 2002). Nessas regiões, o grão é uma das principais fontes de proteína vegetal às populações de menor poder aquisitivo (GRANGEIRO et al., 2005).

Grande parte da produção mundial ocorre no continente africano, sendo Nigéria, Níger e Burkina Faso os maiores produtores. No continente americano, o Brasil é o maior produtor e no asiático, Myanmar. No que se refere ao mercado mundial, FREIRE FILHO et al. (2012) menciona que o feijão-caupi está presente em 97 países, que o produzem e fazem seu consumo. Desde 2008, com o início das exportações, o Brasil vem conquistando espaço nesse mercado. Segundo Sinimbu (2014), nos últimos anos os maiores importadores do grão são Índia e Egito, mas também tem havido exportações para Emirados Árabes, Arábia Saudita, Irã e Indonésia.

2.2 Classificação, origem e distribuição do feijão-caupi

O feijão-caupi (*V. unguiculata* (L.) Walp.), é uma dicotiledonea que pertence à ordem Rosales, família Leguminosae, subfamília Papilionoideae, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolinae e ao gênero *Vigna*, o qual foi estabelecido por Savi em 1824 (PHILLIPES, 1951). É uma cultura de origem africana, introduzida no Brasil pelos colonizadores portugueses na segunda metade do século XVI (FILHO, 1988). Segundo GANDAVO (2001) em 1568 já havia relato da presença de muitos feijões no Brasil e SOUZA (1974) menciona que em 1587 uma grande variedade de feijões e favas foi cultivada na Bahia. Embora não haja confirmação sobre quais feijões eram cultivados, existem evidências de que o feijão-caupi era um deles. Segundo BARRACLOUG (1995), desde a fundação da Bahia como capital administrativa do Brasil em 1549, o comércio com o oeste da África, de Guiné a Angola, foi muito intenso. A partir da

Bahia, o feijão-caupi foi disseminado por todo o País. No Piauí, estado que foi colonizado do sertão para o litoral, a comunicação e o comércio com o sertão foram mais difíceis, e encontra-se a citação do cultivo de feijão em 1697 (DIAS, 2008), fato que sugere que houve intensa disseminação da cultura, principalmente na região Nordeste e da região Nordeste para todo o País. O feijão-caupi, recebe diversos nomes populares de acordo com a região onde é produzido como feijão de corda, feijão-de-praia, feijão-da-estrada, feijão-de-rama, feijão-fradinho ou feijão macassar, macaça ou macáçar. A cultura apresenta ciclo curto, baixa exigência hídrica, rusticidade para se desenvolver em solos de baixa fertilidade e, por meio da simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium*, tem a habilidade para fixar nitrogênio do ar.

2.3 Aspectos fitossanitários associados ao feijão-caupi

No Brasil e em diversos países, a cultura do feijão-caupi é afetada por vários patógenos, como fungos, bactérias, vírus e nematoides, podendo levar à morte da planta e conseqüentemente causar grandes perdas econômicas. Dentre as várias doenças que ocorrem na cultura do feijão-caupi, merecem destaque a rizoctoniose (*Rhizoctonia solani*), que causa a redução do número de plantas por área; a murcha de Sclerotium (*Sclerotium rolfsii*), que leva à morte da planta; o mosaico-severo, que compromete o desenvolvimento da planta e a produção; e a meloidoginose, que pode levar a morte da planta pela interrupção da absorção de água e nutrientes (LIMA, 2017).

Entre as pragas mais importantes para o feijão-caupi e que causam maiores danos, merecem maior atenção os percevejos, a cigarrinha-verde, a larva minadora-das-folhas, o tripés e o manhoso. Entre as pragas que, além de causarem danos diretos, são também vetores de vírus, merecem atenção a vaquinha e a brasileirinha, vetores do CSMV; os pulgões vetores do CABMV e CMV; e as moscas-brancas transmissoras do CGMV. Entre as pragas de pós-colheita, o caruncho é a mais importante, sendo responsável por quase totalidade das perdas ocorridas nos grãos armazenados (SILVA et al., 1999).

2.4 Nematoides associados ao feijão-caupi

Os nematoides são animais considerados aquáticos e pertencentes ao subreino Eumetazoa, divisão Bilaterata, subdivisão Protostomia, superfilo Pseudocelomata, filo Nematoda existindo duas classes, a Chromadorea e Enoplea. Possuem corpo cilíndrico, não segmentado, de cutícula esbranquiçada ou translúcida. São encontrados em diversos habitats

como em águas marinhas, águas doces e filmes de água no solo. Possuem hábito de vida parasitária ou de vida livre, neste caso alimentam-se de microrganismos como algas, bactérias, fungos, protozoários, alguns tipos de anelídeos e até mesmo outros nematoides. As espécies parasitas variam quanto ao hábito de alimentação, sendo classificadas em zooparasitas, afetando animais e o homem, e fitoparasitas, que infectam as plantas. Embora a maioria das espécies de fitonematoides possua maior preferência pelos órgãos subterrâneos das plantas, existem espécies que estão associadas à parte aérea (GOULART et al., 2009). O que caracteriza e diferencia as espécies fitoparasitas de outras, é a presença de uma estrutura na cavidade bucal chamada estilete, que possibilita a sua penetração e injeção de toxinas que podem modificar as estruturas dos órgãos vegetais, e permitir a sua alimentação (FREITAS, 2001). Várias espécies de nematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* estão associadas ao feijão-caupi no Brasil e no mundo, como *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* (LIMA, 2017), causando até 50% de prejuízos para a cultura.

2.5 Gênero *Meloidogyne* Goeldi (1887)

O gênero *Meloidogyne* Goeldi (1887), pertence à classe Chromadorea, ordem Rhabditida, subordem Tylenchina e à família Meloidoginidae, abrangendo mais de 100 espécies no mundo (BLAXTER et al., 1998; HUNT e HANDOO, 2009). O gênero *Meloidogyne* Goeldi (1887) representa os organismos mais evoluídos quanto ao parasitismo de raízes de plantas sendo considerados como um dos principais limitantes da produtividade agrícola. Isso decorre da grande capacidade de adaptação de tais fitoparasitas, em razão de possuírem uma elevada gama de hospedeiros (LORDELLO, 1992). No Brasil, foram relatadas 20 espécies caracterizadas por métodos bioquímicos (esterase) e moleculares (uso de marcadores SCAR) (CARNEIRO et al., 2016). Entre as espécies que merecem maior destaque estão *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla*, que representam mais de 95% dos nematoides das galhas em solos cultivados no mundo (TAYLOR e SASSER, 1978; TIHOHOD, 1993 e CARNEIRO et al., 2016). *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* são as principais causadoras de perdas econômicas em feijão-caupi, podendo chegar a 31% na produção (CHARCHAR et al., 1995).

2.6 Ciclo de vida de *Meloidogyne* spp.

O ciclo de vida das espécies de *Meloidogyne* tem início com o ovo, depositado pela fêmea. As fêmeas têm corpo em forma de pera, globoso. Cada fêmea deposita até 500-1000 ovos que são envolvidos por uma substância gelatinosa. O desenvolvimento do ovo começa com um juvenil totalmente formado, este é o primeiro estágio juvenil (J1). Depois de uma ecdise ainda dentro do ovo, o juvenil eclode do ovo (J2) sendo atraído por exsudatos radiculares das plantas, com posterior penetração nas radículas de plantas suscetíveis, geralmente pelas extremidades e atravessam o parênquima cortical para posicionar a região anterior do corpo na periferia do cilindro central. Ali estabelecem o parasitismo. Através do estilete, injetam secreções em células localizadas ao redor da região anterior do corpo e, por causa dessas secreções, as células das raízes das plantas tornam-se hipertrofiadas, com citoplasma denso, granuloso e núcleos e nucléolos muito evidentes. Devido ao tamanho avantajado, essas células são conhecidas como células gigantes e são essenciais à alimentação e ao desenvolvimento dos nematoides (PINHEIRO, 2008).

A maioria dos danos causados por *Meloidogyne* spp. ocorre nas raízes, os sintomas podem também ser observados na parte aérea das plantas. Plantas severamente afetadas apresentam sintomas de murcha, uma vez que as raízes com galhas apresentam limitada capacidade de absorção, transporte de água e nutrientes para o resto da planta. As plantas também podem exibir sintomas de deficiência nutricional por causa da reduzida capacidade de absorver e transportar nutrientes a partir da solução do solo, assim como, nanismo e queda de produção (MITKOWSKI, 2003).

2.7 Espécies importantes de *Meloidogyne* spp.

M. incognita é considerada a espécie de fitonematoides mais importante em todo o mundo, tendo em vista sua ampla polifagia, sendo mais encontrada em regiões tropicais (CARNEIRO et al., 2016). Sua alta capacidade de infecção se deve ao fato da sua grande variabilidade genética, possuindo quatro raças diferentes (SASSER, 1980). No Brasil ela está associada a pelo menos 250 espécies de plantas (MANSO, 1994). Seu ciclo de vida dura em média quatro semanas, variando de acordo com a temperatura, umidade e hospedeira. Cada fêmea produz em média 400 ovos, o que gera rápido aumento da população (FERRAZ &

MONTEIRO, 2011). Dentre as espécies de nematoides das galhas, *M. incognita* é a que apresenta controle mais difícil, pois destrói o sistema radicular, eliminando praticamente todas as raízes laterais e causando fendas no córtex. A planta entra em declínio, podendo facilmente sucumbir após um quadro sintomatológico que inclui desfolha, clorose e sintomas de deficiência nutricionais (BRASS et al., 2008). Os sintomas diretos e indiretos provocados por *M. incognita* são: formação de galhas, redução no volume do sistema radicular, raízes digitadas, rachaduras em tubérculos, formação de reboleiras, desencadeamento de deficiências nutricionais, murcha das plantas, desfolhas e redução da produtividade (FERRAZ, 2011).

M. enterolobii (YANG e EISENBACK 1983) teve seu primeiro relato em 1981 na China, infectando uma fabácea conhecida como orelha-de-macaco. No passado, *M. enterolobii* e *M. mayaguensis* eram tratadas como espécies diferentes pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, até que em 2004, XU et al. comprovaram que *M. enterolobii* e *M. mayaguensis* se tratavam da mesma espécie, com base em estudos moleculares e de fenótipos de esterase, atualmente, *M. mayaguensis* é sinóníma de *M. enterolobii* (HUNT & HANDOO, 2009). É uma espécie altamente prejudicial principalmente por sua alta capacidade reprodutiva. O primeiro relato oficial no Brasil foi em 2001 na cultura da goiabeira, nos municípios de Petrolina, no estado Pernambuco, e em Curaçá e Maniçoba, na Bahia. Na ocasião, as plantas apresentaram galhas e necroses no sistema radicular, bronzeamento de folhas e ramos, desfolhamento e morte (CARNEIRO et al., 2001).

M. javanica está associado ao sistema radicular das plantas, sendo responsável pela formação de galhas, esta espécie também afeta o desenvolvimento da parte aérea, podendo causar sérios prejuízos na quantidade e qualidade dos frutos. É uma espécie que também possui ampla gama de hospedeiras, as principais são banana, batata, café, cana-de-açúcar, ervilha, feijão, tomate, pessegueiro, ameixeira, macieira, etc. No local onde o nematoide penetra e a partir de onde começa a alimentar-se ocorre a formação de células gigantes, ou seja, aumento de tamanho (hipertrofia) e multiplicação de células (hiperplasia), podendo ocorrer o engrossamento irregular do sistema radicular, tornando-se ineficiente na absorção de água e nutrientes, afetando o crescimento das plantas. Os sintomas típicos da parte aérea são redução do crescimento e amarelecimento das folhas (BRIDGE et al., 2005).

2.8 Manejo de nematoides na cultura do feijão-caupi

O controle do nematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* em feijão-caupi, são feitos através dos controles genético, físico, químico e cultural. No controle físico, recomenda-se o revolvimento do solo, solo sem cultivo por um determinado período, e rotação de culturas (LIMA, 2017). As medidas de manejo cultural são amplamente empregadas, destacando-se a rotação de culturas, pousio, aração profunda e plantio prévio de plantas armadilhas como a *Crotalaria* spp. Não existem nematicidas registrados para a cultura no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, porém em 2014 foi adotada a instrução normativa conjunta nº 1 de 16 de junho, que permite o uso de produtos químicos da mesma família (Fabaceae) na cultura do feijão-caupi, ainda assim, seu controle não é eficiente, pois tais produtos não foram desenvolvidos para a cultura em específico (Notícias Agrícolas, 2017). Estudos quantitativos de herança genética indicaram que a resistência à *Meloidogyne* spp. no feijão-caupi envolve diferentes genes aditivos (EHLERS et al., 2000), é conhecido que algumas variedades e cultivares (Frade-preto, Otilia, Pitiúba, 40 Dias, TVy 264-2, TVu 401, TVu 857, TVu 990, TVu 1560 e TVu 2331), apresentam diferentes graus de resistência para tal gênero de nematoide, porém, não se sabe ao certo quais são esses genes.

2.9 Resistência genética em feijão-caupi

O feijão-caupi é um hospedeiro comum de *Meloidogyne* e é conhecido que diferentes espécies do gênero atacam a cultura, dentre as quais *M. incognita* e *M. javanica* são as mais difundidas (FERY e DUKES, 1980). Devido às limitações de custo e segurança no uso de nematicidas químicos, o manejo de nematoides no feijão-caupi inclui estratégias alternativas que envolvem rotações das culturas e resistência genética (ROBERTS et al. 2005).

O gene *Rk*, designado por FERY e DUKES em 1980, é eficaz contra diferentes isolados de *Meloidogyne* e portanto, foi implantado em cultivares modernas por meio de melhoramento convencional usando seleção fenotípica (EHLERS et al. 2002, 2009). Até recentemente, não havia uma definição baseada em marcador do locus *Rk* para facilitar a seleção indireta da resistência em programas de melhoramento. Embora seja necessária alguma fenotipagem no melhoramento por seleção assistida com marcadores, o desenvolvimento de marcadores para a seleção indireta da resistência aos nematoides tem muitas vantagens, especialmente quando as plataformas de genotipagem de alto rendimento estão disponíveis, como são agora para o feijão-

caupi (HUYNH et al. 2015; MUCHERO et al. 2009). Entre esses genes, um único gene dominante (*Rk*), eficaz contra isolados NGR avirulentos, foi associado a uma QTL mapeada no grupo de ligação 11 (LG11) do feijão-caupi usando marcadores de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) (HUYNH et al., 2016). Existe um outro gene também dominante chamado *Rk*² que confere um maior nível de resistência que o gene *Rk* (ROBERTS et al., 1997). O gene *Rk*² foi determinado ser alélico ao gene *Rk*, que resulta em um nível de resistência mais elevado do que aquele mediado apenas por *Rk* e confere uma resistência de base ampla a diferentes populações de NGR (ROBERTS et al., 1997). Recentemente, na tentativa de mapear o gene *Rk*², outra QTL foi mapeada no grupo de ligação 9 com efeito aditivo sobre o gene *Rk*, conferindo algum grau de resistência a isolados virulentos (SANTOS et al., 2018). Outras duas QTLs foram associadas à resistência, através da avaliação do índice de galhas (IG) e massas de ovos (EM), foram detectadas nos cromossomos Vu01 e Vu04. A QTL Vu01 foi mais eficaz contra *M. javanica*, enquanto as duas QTLs foram mais eficazes contra *M. incognita* avirulenta (NDEVE et al., 2019).

A resistência genética a NGR nas cultivares comerciais de feijão-caupi mais cultivadas nos Estados Unidos, incluindo California Blackeye 46 (CB46), é conferida por um importante gene dominante (*Rk*) (ROBERTS et al., 1995, 1996, 1997). Estudos demonstram que o uso frequente do gene *Rk* para controlar NGR pode levar a seleção de virulência para este gene (PETRILLO e ROBERTS, 2005). Na Califórnia, foram relatadas populações virulentas e agressivas de *M. incognita* e *M. javanica* (SWANSON & VAN GUNDY, 1984, ROBERTS et al., 1997). Em geral, o manejo ao NGR em sistemas de cultivo de feijão-caupi depende de uma estreita base genética de resistência (ROBERTS et al., 1997) derivado do pool genético do feijão-caupi (HUYNH et al., 2013). Em uma extensa pesquisa, poucas fontes adicionais de resistência foram encontradas (EHLERS et al., 2002) nesse pool genético do feijão-caupi. Para o manejo de NGR, singular ou como pirâmides gênicas, estão sendo estudados para futuras aplicações no desenvolvimento de cultivares de feijão-caupi com ampla resistência. Os resultados das pesquisas em andamento e os esforços de melhoramento demonstraram que a resistência de base ampla baseada em conjuntos complexos de genes por exemplo *RkRk*/*QRk-vu9.1*, *RkRk*/*QRk-vu9.1*/gene para galhas e *RkRk*/*rk3rk3* fornecem genes robustos e resistência mais efetiva contra diversas populações de NGR (EHLERS et al., 2002; ROBERTS et al., 2014 e SANTOS et al., 2018). No entanto, a função biológica desses genes ainda não está totalmente esclarecida. Além disso, alguns desses genes exibem especificidade de resistência que limita sua eficácia a determinadas espécies de NGR, o gene *Rk* por exemplo, não é eficaz contra

isolados virulentos de *M. incognita* e confere apenas resistência moderada a isolados agressivos de *M. javanica* (ROBERTS et al, 1997). Embora a resistência da planta hospedeira seja considerada estratégia mais eficaz para o manejo de NGR no feijão-caupi, a natureza dinâmica das populações de NGR e o surgimentos de patótipos virulentos sugerem a necessidade de novas fontes adicionais de resistência a esses patógenos (FERY et al., 1994; ROBERTS et al., 1996; EHLERS et al., 2002).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Identificação de gêneros de fitonematoides

Tendo em vista a importância de se conhecer os nematoides que mais ocorrem nas áreas produtoras ou potencialmente produtoras de feijão-caupi, um levantamento foi realizado em cinco regiões distribuídas pelo país. As coletas foram realizadas por agricultores nas localidades de Jataí/GO, Barreiras/BA, Dom Eliseu/PA, Sorriso/MT, Primavera do Leste/MT e Sinop/MT e encaminhadas para o laboratório de nematologia da Universidade de Brasília. Assim que recebidas, as amostras foram processadas com o objetivo de identificar os gêneros de nematoides presentes, além de possibilitar a identificação de espécies de *Meloidogyne*, quando ocorriam.

As raízes foram separadas do solo, para cada amostra, sendo que a extração dos nematoides do solo foi realizada pelo Método de Jenkins (método do peneiramento e flutuação em centrífuga) (TIHOHOD, 1993) e das raízes pelo método de HUSSEY & BARKER (1973), modificado por BONETI & FERRAZ (1981).¹

Após a extração, os nematoides foram mortos pelo aquecimento gradual em água até 55°C e, em seguida, fixados em formalina 2 a 4%, onde foram preservados em frascos de vidro.

A contagem e identificação dos gêneros de fitonematoides presentes nas amostras foram realizadas sob microscópio estereoscópico com auxílio de uma câmara de Petters. Cada gênero foi identificado com base em seus caracteres morfológicos e quantificados separadamente. A quantificação foi realizada em triplicata e a média calculada por 5 gramas de raiz e 200 cm³ de solo.

Quando sintomas causados por *Meloidogyne* spp. foram visíveis, parte do solo e raiz proveniente das amostras recebidas, eram utilizados para o cultivo de plantas de feijão-caupi e tomate (suscetível) para a multiplicação do nematoide visando a identificação das espécies do nematoide e a produção de inóculo para estudos subsequentes.

3.1.1 Identificação à nível de espécie para o gênero *Meloidogyne*

Padrões isoenzimáticos são geralmente comparados com um padrão já conhecido, com a Mobilidade Relativa (Rm) de bandas de cada fêmea individual calculada e comparada às bandas padrão de *M. javanica* (ESBENSHADE & TRIANTAPHYLLOU, 1990; CARNEIRO & ALMEIDA, 2001; COFCEWICZ et al., 2004; CARNEIRO & COFCEWICZ, 2008). Para a

técnica de isoenzimas, são utilizadas principalmente fêmeas no estágio adulto (DALMASSO & BERGÉ, 1978). As esterases das espécies encontradas foram analisadas por meio de eletroforese de extratos de fêmeas inteiras. Os indivíduos foram macerados individualmente em microtubos de 1,5ml contendo 15µl de Tampão de Extração (Tris-HCl 0,1M, pH 8,8), aplicados em gel de poliacrilamida a 10% de concentração, em Tampão Tris-HCl 0,2M e pH 8,8. Como tampão de corrida foi utilizado o Tampão Tris-Glicina 0,1M pH 8,3, sendo que a eletroforese vertical foi conduzida durante 1 hora e 10 minutos em voltagem constante de 80V. Após a eletroforese, o gel foi pré-incubado por 60 minutos em Tampão Fosfato 0,1M, pH 6,2 e em seguida corado, evidenciando-se assim as bandas com atividade esterásica. Como substratos foram utilizados 40mg de α -naftil acetato previamente diluídos em 1,0ml de acetona. Como corante foram utilizados 120mg de Fast Blue RR Salt. Estes compostos foram adicionados a 100ml de Tampão Fosfato 0,1 M pH 6,2 contendo 10ml de n-propanol. O tempo de coloração foi de aproximadamente 30 minutos. Após esse período, os géis foram colocados em uma solução descorante (álcool comercial/ácido acético/ água 3:1:3) por no mínimo 24 horas.

3.2 Seleção de fontes de resistência em feijão-caupi

3.2.1 Local e delineamento experimental

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, localizada em Brasília/DF. A seleção de fontes de resistência genética de genótipos de feijão-caupi foi realizada com as espécies de nematoides *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*. Com delineamento inteiramente casualizado, o experimento foi conduzido com 26 genótipos de feijão-caupi, sendo que desses 19 são cultivares comerciais brasileiras, três cultivares nigerianas, quatro isolinhas desenvolvidas pela Universidade da Califórnia – Riverside e uma cultivar de tomate suscetível ao nematoide das galhas (Tabela 1). As isolinhas são derivadas da cultivar CB46, cultivar mais plantada na Califórnia, diferem entre si pela ausência de resistência ou diferentes níveis de resistência (ROBERTS et al., 2014; HUYNH et al., 2016; SANTOS et al., 2018; NDEVE et al., 2018). As isolinhas CB46-Null, CB3-gg, NIL 2 – genes e NIL 3 – genes, foram incluídas no ensaio como padrão de suscetibilidade e resistência, assim como a cultivares IT84S-2049, IT93K-503-1 e IT89KD-288 e a cultivar de tomate Santa Clara (Tabela 1). Foram utilizadas seis plantas de cada genótipo, em vasos de plástico de 1 litro cada, na proporção de 2:1 solo e areia (Figura 1)

previamente autoclavado. A semeadura foi realizada com 3 sementes de cada material por vaso, com posterior desbaste, totalizando seis vasos de cada material com uma planta por vaso. Os experimentos foram repetidos no tempo tanto para *M. incognita*, quanto para *M. enterolobii* e um único experimento para *M. javanica*.



Figura 1. Seleção de genótipos de feijão-caupi para resistência a *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*, 45 dias após a inoculação.

Tabela 1. Genótipos de feijão-caupi utilizados nos experimentos e a reação para *M. incognita*, *M. enterolobii* e *M. javanica*.

GENÓTIPOS	GENES DE RESISTÊNCIA	REAÇÃO			REFERÊNCIA
		<i>M. incognita</i>	<i>M. enterolobii</i>	<i>M. javanica</i>	
BRS ARACÊ	-	-	-	-	-
BRS CAUAMÉ	-	-	-	-	-
BRS CARAGUAÇU	-	-	-	-	-
BRS FRADINHO	RK/rk3	RESISTENTE	-	RESISTENTE	-
BRS GUARIBA	-	-	-	-	-
BR17 GURGUEIA	-	-	-	-	-
BRS IMPONENTE	-	-	-	-	-
BRS INHUMA	-	-	-	-	-
BRS ITAIM	-	-	-	-	-
BRS JURUÁ	-	-	-	-	-
BRS MARATAOÁ	-	-	-	-	-
BRS MILÊNIO	-	-	-	-	-
BRS NOVAERA	-	-	-	-	-
BRS PAJEÚ	-	-	-	-	-
BRS PINGO DE OURO	-	-	-	-	-
BRS POTENGI	-	-	-	-	-
BRS ROUXINOL	-	-	-	-	-
BRS TUMUCUMAQUE	-	-	-	-	-
BRS XIQUEXIQUE	-	-	-	-	-
CB46-Null	rk /rk ²	SUSCETÍVEL	-	SUSCETÍVEL	Fery e Dukes, 1980/Roberts et al., 1997
CB3-gg	rk/rk ² /*	SUSCETÍVEL	-	SUSCETÍVEL	Fery e Dukes, 1980/Roberts et al., 1997
NIL-2 genes	Rk/QRk-vu9.1	RESISTENTE	-	RESISTENTE	Fery e Dukes, 1980/Santos et al, 2018
NIL-3 genes	Rk/QRk-vu9.1/*	RESISTENTE	-	RESISTENTE	Fery e Dukes, 1980/Santos et al, 2018
IT84S – 2049	Rkrk ²	RESISTENTE	-	RESISTENTE	Fery e Dukes, 1980/Roberts et al., 1997
IT93K-503-1	-	RESISTENTE	-	RESISTENTE	
IT89KD-288	-	RESISTENTE	-	RESISTENTE	
TOMATE STA. CLARA	-	SUSCETÍVEL	SUSCETÍVEL	SUSCETÍVEL	

* Material permite a multiplicação dos nematoides, mas não há formação de galhas, ou formam poucas galhas.

3.2.2 Inoculação e avaliação

Após 15 dias da semeadura, as plantas foram inoculadas individualmente com uma suspensão contendo cerca de 12.000 ovos e eventuais juvenis. Nesse período, as plantas apresentavam o primeiro par de trifólios de folhas. As avaliações foram conduzidas 60 dias após a inoculação, com as raízes cuidadosamente retiradas, lavadas em água e pesadas. Em seguida, foi dada uma nota correspondente a quantidade de galhas em cada raiz conforme escala desenvolvida por BRIDGE e PAGE (1980) e adaptada para o feijão-caupi.

A atribuição de nota foi realizada levando-se em consideração a quantidade de galhas visíveis nas raízes conforme o índice (IG) modificado de BRIDGE e PAGE 1980, onde: 0 = sem nematoides, 1 = poucas galhas pequenas, difíceis de serem visualizadas, 2 = galhas pequenas e visíveis, raiz principal sem galhas, 3 = galhas um pouco maiores, raiz principal sem galhas, 4 = galhas maiores, mas a raiz principal continua sem galhas, 5 = metade das raízes com galhas, galhas em partes das raízes principais, apresenta diminuição no sistema radicular, 6 = galhas nas raízes principais, 7 = maioria das raízes principais com galhas, 8 = todas as raízes principais com galhas, 9 = todas as raízes severamente atacadas, planta morrendo, 10 = todas as raízes gravemente atacadas, nenhum sistema radicular presente, planta geralmente morta. Resumidamente, nas notas de 1 a 4 apenas as raízes secundárias apresentam galhas e as notas de 5 a 10 há galhas tanto nas raízes secundárias quanto nas principais, com 5 correspondendo a 50% das raízes com galhas e 10 quase que ausência de sistema radicular.

Após esta etapa, as raízes foram processadas individualmente (pelo método de HUSSEY & BARKER, 1973, modificado por BONETI & FERRAZ, 1981), para a quantificação dos ovos e juvenis de segundo estágio ali presentes. Após processadas, eles foram mortos e fixados em solução de Golden, com posterior contagem em câmara de Peters, no microscópio ótico.

Através da estimativa do número de ovos e juvenis de segundo estágio utilizando a contagem na câmara de Peters, foi possível determinar o Fator de Reprodução (FR) como: $FR = P_f/P_i$ para cada planta, em que P_f corresponde a população final e P_i , a população inicial. Com relação à reação dos acessos aos nematoides, foram considerados imunes os genótipos que apresentaram FR igual a zero, resistentes, os que apresentaram FR menor que 1,0 e suscetíveis os que apresentaram FR maior que 1,0 (OOSTENBRINK, 1966). Os genótipos também foram classificados para resistência e suscetibilidade de acordo com a escala de MOURA & REGIS (1987).

3.3 Análise estatística

Para análise dos dados foi realizada a análise de variância (ANOVA). As análises estatísticas foram realizadas no programa SISVAR e as médias foram comparadas pelo teste de Scott Knot a 5% de probabilidade. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e para normalização dos dados foram usadas as seguintes transformações: para todos os experimentos, houve transformação nos valores de Índice de galhas (IG), Peso fresco da raiz (PFR), Nematoides por grama de raiz (NGR) e População final de nematoides (PFR) foram transformados para $\log(x+1)$ e o Fator de Reprodução (FR) foi raiz quadrada de $(X+1)$. Nas tabelas as médias apresentadas são as originais sem transformação.

4. Resultados

4.1 Gêneros de nematoides identificados em regiões produtoras de feijão-caupi

Um total de 11 gêneros de fitonematoides (*Aphelenchoides*, *Aphelenchus*, *Criconemoide*, *Helicotylenchus*, *Heterodera*, *Meloidogyne*, *Paratrichodorus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchulus*, *Trichodorus* e *Trophotylenchus*) foram identificados nas sete localizações amostradas, com base em características morfológicas de cada gênero. Os gêneros *Aphelenchoides*, *Pratylenchus* e *Helicotylenchus* foram os que ocorreram com maior frequência, sendo que o primeiro ocorreu em todas as amostras, o segundo exceto na amostra 3 (Barreiras – BA) e o terceiro exceto na amostra 4 (Sorriso – MT). *Pratylenchus* e *Helicotylenchus* destacaram-se como os mais abundantes, nas amostras onde ocorreram, com exceção na amostra 7 (Sinop - MT) onde o gênero *Meloidogyne* foi o mais abundante. O gênero *Meloidogyne* também foi detectado e o foi o mais abundante na amostra 4 (Sorriso – MT). Vale destacar também a ocorrência dos gêneros *Rotylenchulus*, encontrado nas duas amostras provenientes de Primavera do Leste – MT, e *Heterodera* encontrado na amostra 5, também de Primavera do Leste (Tabela 2).

TABELA 2. Identificação de gêneros de fitonematoides em amostras coletadas de campos de produção de feijão-caupi em diferentes regiões do Brasil.

AMOSTRA	LOCAL	GÊNEROS IMPORTANTES	RAIZ	SOLO
			NEMATOIDES/5 GR ¹	NEMATOIDES/200 CC ²
1	Jataí - GO	<i>Pratylenchus</i>	289	9
		<i>Helicotylenchus</i>	19	387
		<i>Aphelenchoides</i>	16	45
		<i>Aphelenchus</i>	1	27
		<i>Trophotylenchus</i>	20	0
		<i>Paratrichodorus</i>	0	36
2	Barreiras – BA	<i>Pratylenchus</i>	27	0
		<i>Helicotylenchus</i>	1	64
		<i>Aphelenchoides</i>	37	0
3	Barreiras – BA	<i>Helicotylenchus</i>	0	27
4	Sorriso-MT	<i>Meloidogyne</i>	2588	1200
		<i>Pratylenchus</i>	1668	464
		<i>Aphelenchoides</i>	118	48
		<i>Aphelenchus</i>	38	112
		<i>Paratrichodorus</i>	0	48
5	Primavera do leste – MT	<i>Pratylenchus</i>	529	160
		<i>Helicotylenchus</i>	23	800
		<i>Aphelenchoides</i>	19	320
		<i>Rotylenchulus</i>	12	0
		<i>Heterodera</i>	0	80
		<i>Aphelenchus</i>	12	320
6	Primavera do leste – MT	<i>Pratylenchus</i>	1258	64
		<i>Aphelenchoides</i>	15	256
		<i>Helicotylenchus</i>	11	277
		<i>Heterodera</i>	0	64
		<i>Aphelenchus</i>	0	128
		<i>Rotylenchulus</i>	0	64
7	Sinop - MT	<i>Aphelenchus</i>	124	278
		<i>Aphelenchoides</i>	0	8
		<i>Criconemoide</i>	18	265
		<i>Helicotylenchus</i>	0	31
		<i>Meloidogyne</i>	6588	186
		<i>Pratylenchus</i>	337	86
		<i>Paratrichodorus</i>	0	5514
		<i>Trichodorus</i>	59	8

¹ 5 gramas de raiz.

² 200 centímetros cúbicos de solo.

4.1.1 Identificação bioquímica de espécies de *Meloidogyne*

Os nematoides das galhas detectados nas amostras 4 e 7, provenientes de Sorriso – MT e Sinop – MT, respectivamente, não puderam ser identificadas a nível de espécie no momento de recepção das amostras no laboratório devido ao estado em que se encontravam as fêmeas, porém amostras de solo e raízes foram utilizadas para a multiplicação do nematoides em vasos com tomate suscetível. Dessa forma, a determinação de espécie desses nematoides pelo teste bioquímico encontram-se em processo de identificação.

Por outro lado, a identificação bioquímica foi realizada para efeito de identificação das populações de nematoides utilizadas como inóculo nos ensaios de identificação em casa de vegetação. Através das análises isoenzimáticas de esterase, os perfis obtidos em gel de poliacrilamida corresponderam as espécies *M. incognita* (Est I2) (Figura 2), originária de Dom Eliseu-PA/cultura do feijão-caupi, *M. enterolobii* (Est M2) (Figura 3), originária da coleção da Embrapa Hortaliças/DF, e a espécie *M. javanica* (Est J3) (Figura 2 e 3), originária de áreas plantadas com cafeeiro proveniente do oeste da Bahia. Apesar de *M. enterolobii* e *M. javanica* não terem vindo especificamente da cultura do feijão-caupi, esses nematoides foram mantidos no feijão-caupi por aproximadamente 3 gerações do ciclo de vida do nematoide, com a finalidade de permitir uma maior adaptabilidade dos nematoides nessa espécie vegetal. A partir da confirmação destas espécies, foi possível utilizá-las nos experimentos de seleção de resistência do presente trabalho.

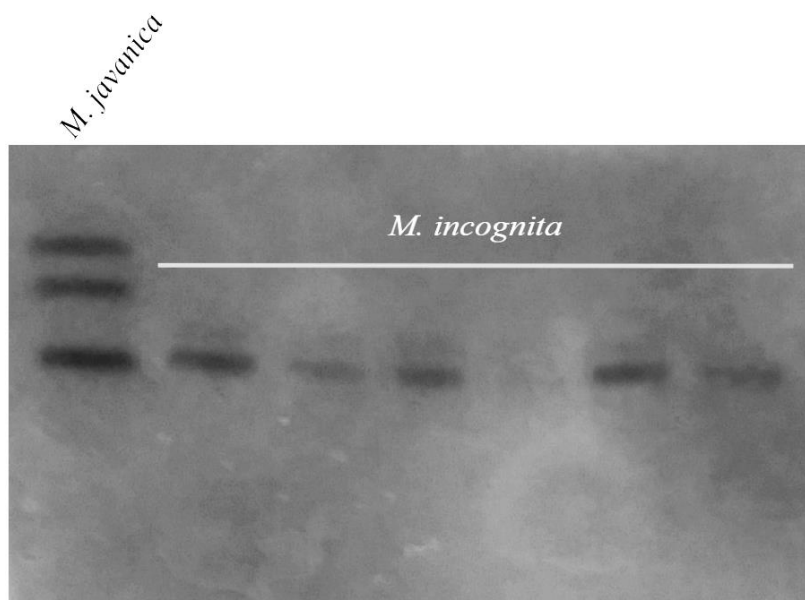


Figura 2. Perfil isoenzimático de esterase observado para *M. incognita* (Est I2).

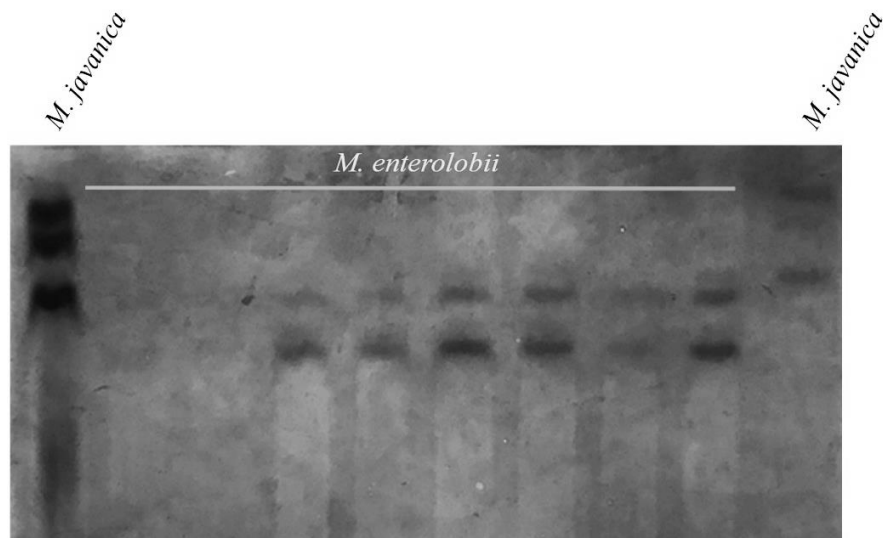


Figura 3. Perfil isoenzimático de esterase observado para *M. enterolobii* (Est M2).

4.2 Seleção para resistência à *Meloidogyne* spp.

A partir das contagens em câmara de Peters e microscópio ótico, foi possível calcular a quantidade total de nematoides por planta, com isso, foi determinado o valor do Fator de Reprodução (FR) para cada planta. Através do FR, foi possível determinar se a planta em questão é suscetível ou resistente para cada espécie de nematoide estudada. O FR foi determinado para as três espécies, *M. enterolobii*, *M. incognita* e *M. javanica*. Possibilitando observar genótipos resistentes para as três espécies de nematoides e também genótipos suscetíveis. Nas tabelas 6, 7, 8, 9 e 10, estão dispostos os dados obtidos para cada espécie de nematoide e sua repetição, as informações obtidas foram: índice de galhas (IG), peso da raiz (PFR), nematoide por grama de raiz (NGR), fator de reprodução (FR) e população final de nematoides (PF). A cultivar de tomate Santa Clara, controle suscetível em todos os ensaios, apresentou de forma geral valores elevados de IG e de multiplicação dos nematoides (NGR, FR e PF), demonstrando a viabilidade dos inóculos.

4.2.1 Índice de galhas

4.2.1.1 *Meloidogyne enterolobii*

As notas atribuídas aos genótipos nos ensaios com *M. enterolobii* tiveram como nota mínima o valor 0 e com máxima 8 (Figura 4). As médias obtidas variaram 1 a 7 (Figura 5a e b). No primeiro experimento, o genótipo BRS Rouxinol recebeu a maior nota (7) e os genótipos BRS Fradinho, BRS Inhuma, IT84S-2049 e IT93K-503-1 receberam as menores notas (2). No segundo experimento, o genótipo BRS Imponente foi a que recebeu a menor nota (1) e o

genótipo BRS Rouxinol recebeu a maior nota (7), assim como no primeiro experimento. Dos 26 genótipos de feijão-caupi avaliados, sete tiveram IGs menores que 4 no primeiro ensaio e outros sete genótipos no segundo ensaio. Os genótipos IT93K-503-1, BRS Fradinho e BRS Novaera foram selecionados como resistentes, com base nos IGs, por apresentarem índices menores que 4 nos dois ensaios (Figura 5a e b).

Dos genótipos controle utilizados nos ensaios, por serem conhecidos como resistentes a *M. incognita* e/ou *M. javanica*, apenas o IT93K-503-1 apresentou o IG menores que 4 nos dois ensaios. O genótipo padrão de suscetibilidade CB46-null apresentou IGs maiores que 4 nos dois ensaios.



Figura 4. Exemplos de notas atribuídas às raízes de feijão-caupi após inoculação com *M. enterolobii*.

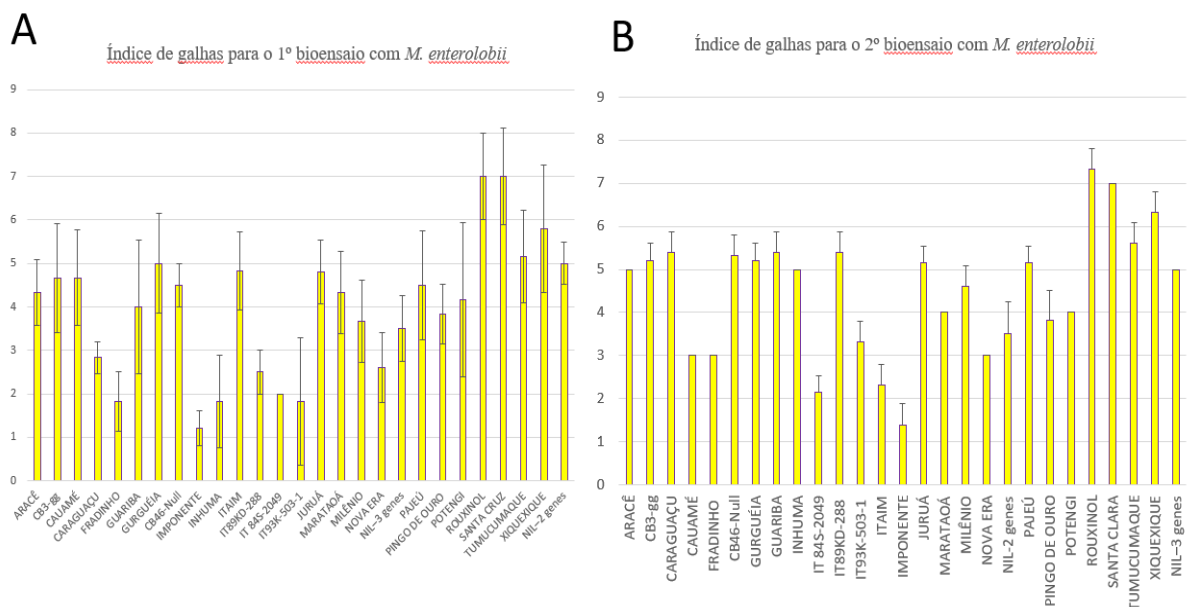


Figura 5. Índice de galhas para os dois bioensaios realizados para *M. enterolobii*. (A) Primeiro bioensaio; (B) Segundo bioensaio. As barras representam os desvios padrão das médias.

4.2.1.2 *Meloidogyne incognita*

As notas atribuídas aos genótipos nos ensaios com *M. incognita* tiveram como nota mínima o valor zero e como máxima 8 (Figura 6). Por outro lado, as médias obtidas variaram da nota zero a 7 (Figura 7a e b). No primeiro experimento, os genótipos BRS Xiquexique e BRS Tumucumaque receberam as maiores notas (7) e NIL-2genes, BRS Fradinho e IT84S-2049 receberam as menores (0). No segundo experimento os genótipos NIL-2genes, IT84S-2049 e IT89KD-288 receberam as menores notas (0), sendo os que receberam as maiores foram os mesmos do primeiro ensaio. Dos 26 genótipos de feijão-caupi avaliados 20 tiveram IGs menores que 4 no primeiro ensaio e 19 no segundo ensaio, sendo esses 19 (NIL-2genes, BRS Fradinho, IT84S-2049, BRS Itaim, BRS Imponente, IT93K-503-1, NIL-3genes, BRS Potengi, BRS Pajeú, BRS Araçê, BRS Milênio, BRS Caraguaçu, BRS Novaera, BRS Pingo de ouro, BRS Rouxinol, BRS Inhuma, BRS Juruá e CB3-gg) foram selecionados como resistentes com base nos seus IGs por apresentarem índices menores que 4 nos dois ensaios (Figura 7a e b). Os padrões de resistência e suscetibilidade incluídos nos dois ensaios confirmaram o comportamento esperado, com destaque para o genótipo CB3-gg (IG 3, ambos ensaios), validando os ensaios.



Figura 6. Exemplos de notas atribuídas às raízes de feijão-caupi após inoculação com *M. incognita*.

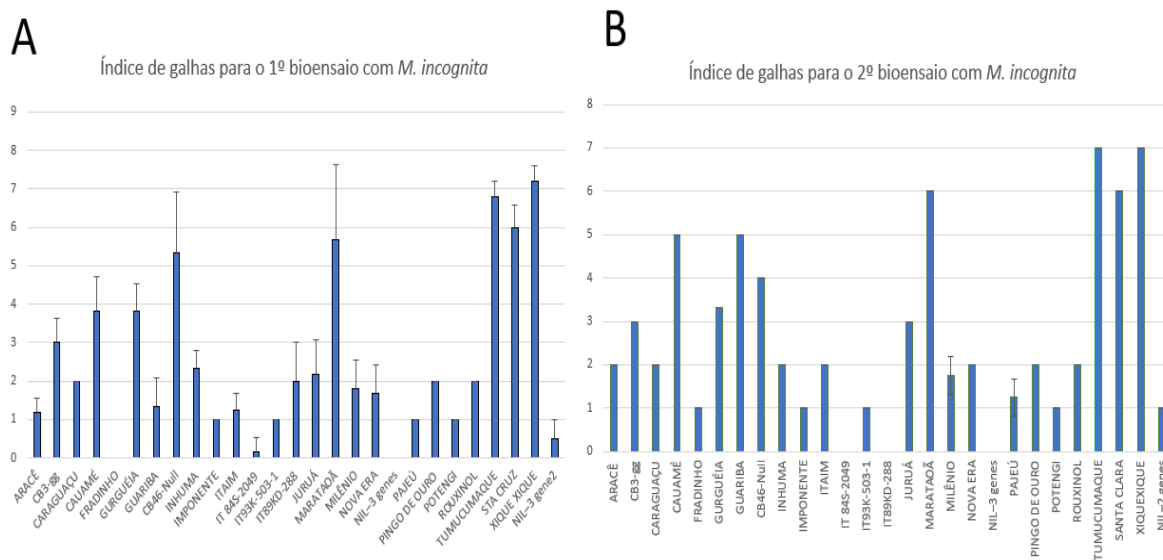


Figura 7. Índice de galhas para os dois bioensaios realizados para *M. incognita*. (A) Primeiro bioensaio; (B) Segundo bioensaio. As barras representam os desvios padrão das médias.

4.2.1.3 *Meloidogyne javanica*

As notas atribuídas aos genótipos no ensaio com *M. javanica* tiveram como nota mínima o valor 1 e como máxima o valor 7. As médias obtidas variaram de 1 a 6 (Figura 8). Os genótipos BRS Fradinho, NIL-2 genes apresentaram os menores IGs (1) e os genótipos BRS Cauamé, BR 17 Gurgueia, BRS Inhuma, BRS Juruá, BRS Novaera, BRS Pajeú, BRS Xiquexique receberam os maiores IGs (7). Dos 26 genótipos de feijão-caupi avaliados, NIL-2genes, BRS Fradinho, IT93K-503-1, IT89KD-288, IT84S-2049, NIL-3 genes, CB3-gg, BRS Caraguaçu, BRS Rouxinol tiveram IGs menores que 4, sendo eles selecionados como resistentes com base em seus IGs. Os padrões de resistência e suscetibilidade incluídos nos dois ensaios confirmaram o comportamento esperado, validando os ensaios (Figura 8).

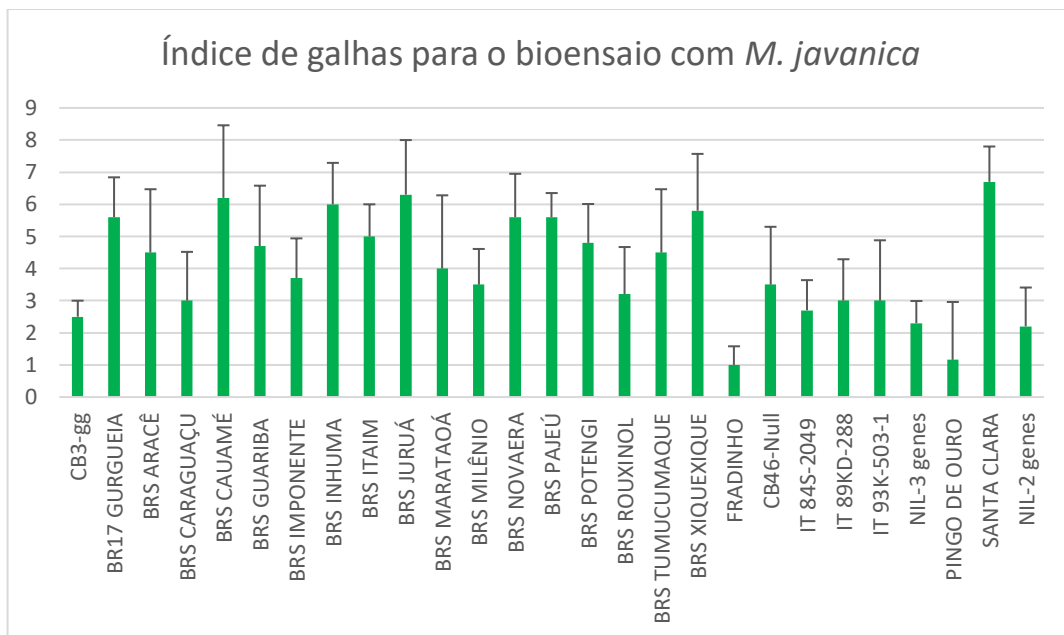


Figura 8. Índice de galhas para o bioensaio realizado para *M. javanica*. As barras representam os desvios padrão das médias.

4.2.2 Resultados obtidos para fator de reprodução

4.2.2.1 *Meloidogyne enterolobii*

No primeiro experimento com *M. enterolobii*, três grupos de genótipos foram formados em relação ao peso fresco da raiz (PFR), sendo que o genótipo BRS Xiquexique apresentou o maior PFR (26,48 gramas), BRS Novaera o menor (1,78 gramas). Doze genótipos tiveram PFR intermediários que variaram de 6,07 a 9,33 gramas e 13 genótipos com PFR menores que

variaram de 1,78 a 4,75 gramas (Tabela 3). Os números médios de nematoides por grama de raiz (NGR) variaram de 638 (IT93K-503-1) a 261.271 (BRS Guariba). Em relação ao número total de nematoides (Juvenis e Ovos) encontrados ao final do ensaio, BRS Fradinho, IT-93K-503-1 e BRS Novaera apresentaram os menores números 5.646, 8.130 e 5.896, respectivamente. A BRS Aracê foi a que apresentou os maiores números de ovos e juvenis (10.347) presentes em seu sistema radicular. Em relação ao fator de reprodução, apenas os genótipos BRS Fradinho, BRS Inhumá, IT89KD-288, IT93K-503-1, BRS Milênio e BRS Novaera apresentaram FR menor do que o valor um (Tabela 3).

No segundo experimento, o maior PFR foi o genótipo BRS Pingo de ouro (28,59 gramas) e o menor foi NIL-2genes (1,86). O NGR variou de 189 (BRS Imponente) a 28.113 (NIL-3genes). Os genótipos BRS Caraguaçu, BRS Cauamé, BRS Fradinho, BRS Imponente, BRS Inhumá, BRS Itaim, IT84S-2049, BRS Marataoã, BRS Milênio, BRS Novaera e BRS Potengi também se destacaram por apresentar baixos NGR. A cultivar BRS Juruá apresentou o maior número de nematoides na raiz e conseqüentemente o maior FR. O genótipo BRS Imponente apresentou o menor PF. Dos 26 genótipos avaliados, apenas quatro (BRS Fradinho, BRS Imponente, IT84S-2049 e BRS Milênio) tiveram os FR menores do que o valor 1 (Tabela 4).

Dos 26 genótipos de feijão-caupi avaliados, 2 genótipos (BRS Fradinho e BRS Milênio) foram selecionados como resistentes a *M. enterolobii* baseado nos dados de multiplicação do nematoide nos dois experimentos. Os 2 genótipos comportaram-se como resistentes nos dois experimentos com base na classificação de Oostenbrink (1966), e como resistentes e moderadamente resistentes conforme a classificação proposta por Moura & Régis (1987) (Tabela 3 e 4). Nenhum dos controles resistentes incluídos no ensaio foram classificados como resistentes à *M. enterolobii* em ambos os ensaios, apesar de IT93K-503-1 e IT89KD-288 estarem entre as classificadas como resistente no primeiro ensaio e IT84S-2049 no segundo.

TABELA 3. Reação de acessos de feijão-caupi inoculado com 12.000 ovos e eventuais juvenis de *M. enterolobii*, baseada no Peso da raiz (PFR), nematoides por grama de raiz (NGR), Fator de reprodução (FR), Redução do FR (%RFR) e População Final (PF) do bioensaio 1 (Período de realização 03/2018 a 05/2018).

Genótipos	PF		PFR		NGR		FR		Reação ¹	%RFR	Reação ²
BRS MILÊNIO	21384	a3	4,75	a1	1564	a2	0,56	a1	R	94,25	MR
IT93K-503-1	8130	a1	7,81	a2	638	a1	0,59	a1	R	93,94	MR
BRS FRADINHO	5646	a1	3,52	a1	6962	a2	0,77	a1	R	92,1	MR
BRS INHUMA	12763	a2	2,51	a1	3123	a2	0,86	a1	R	91,16	MR
BRS NOVAERA	5896	a1	1,78	a1	5806	a3	0,89	a1	R	90,82	MR
IT89KD-288	10132	a2	2,78	a1	4535	a3	0,93	a1	R	90,39	MR
IT84S-2049	28691	a3	7,24	a2	1965	a2	1,24	a1	S	87,22	MR
BRS CARAGUAÇU	9208	a1	4,25	a1	4074	a3	1,58	a1	S	83,7	MR
CB3-gg	49012	a3	2,99	a1	8472	a3	1,68	a1	S	82,67	MR
BRS IMPONENTE	28579	a3	4,28	a1	5095	a3	1,94	a1	S	80,03	MR
NIL-3genes	10063	a2	1,89	a1	15870	a4	2,5	a1	S	74,27	PR
BRS ITAIM	38586	a3	3,78	a1	7666	a3	2,63	a1	S	72,9	PR
NIL-2genes	44897	a3	3,17	a1	17820	a4	2,67	a1	S	72,56	PR
BRS PAJEÚ	18118	a3	8,96	a2	5791	a3	3,65	a2	S	62,44	PR
BRS ROUXINOL	60772	a3	8,79	a2	7070	a3	4	a2	S	58,83	PR
BRS MARATAOÃ	41697	a3	8,8	a2	5513	a3	4,23	a2	S	56,43	PR
BRS JURUÁ	27624	a3	7,64	a2	5924	a3	4,4	a2	S	54,72	PR
BRS CAUAMÉ	45991	a3	6,07	a2	8593	a3	4,48	a2	S	53,85	PR
BRS GUARIBA	58534	a3	2,84	a1	26127	a4	5,2	a2	S	46,48	S
BR 17 GURGUÉIA	101989	a3	9,33	a2	15368	a3	5,47	a2	S	43,74	S
BRS POTENGI	16903	a2	7,91	a2	7077	a3	5,67	a2	S	41,68	S
BRS XIQUEXIQUE	56537	a3	26,48	a3	4871	a2	6,18	a2	S	36,4	S
BRS TUMUCUMAQUE	90212	a3	7,71	a2	13395	a4	8,5	a3	S	12,52	AS
BRS PINGO DE OURO	92714	a3	7,47	a2	13646	a4	8,58	a3	S	11,66	AS
CB46-null	66868	a3	4,19	a1	24079	a3	9,5	a3	S	2,22	AS
BRS ARACÊ	105347	a3	7,7	a2	13503	a4	9,72	a3	S	0	AS ³
SANTA CLARA	42331		13,96		4666		3,96		S		
CV (%)	8,93		27,56		12,07		29,65				

Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si (Scott Knot, 5% de probabilidade);

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

2 Classificação proposta por Moura & Régis (1987), onde AS = Altamente suscetível; S = Suscetível; PR = pouco resistente; MR = moderadamente resistente; R = resistente; AR = altamente resistente, com base em Pi = 12000 ovos. * Transformações realizadas: o Índice de galhas, Peso da raiz e Nematóide por grama de raiz, para log (x) e fatores de reprodução para raiz, médias apresentadas são as originais sem transformação.

TABELA 4. Reação de acessos de feijão-caupi inoculado com 12.000 ovos e eventuais juvenis de *M. enterolobii*, baseada no Peso da raiz (PFR), Nematoides por grama de raiz (NGR), Fator de reprodução (FR), Redução do FR (%RFR) e População Final (PF) do bioensaio 2 (Período de realização 10/2019 a 12/2019).

Genótipos	PF		PFR		NGR		FR		Reação ¹	%RFR	Reação ²
BRS IMPONENTE	1888	a1	12,77	a3	189	a1	0,15	a1	R	99,25	R
BRS FRADINHO	8242	a2	5,61	a2	1588	a1	0,65	a1	R	96,67	R
BRS MILÊNIO	7243	a2	6,94	a2	1188	a1	0,58	a1	R	97,06	R
IT 84S – 2049	8395	a2	3,08	a1	2879	a1	0,67	a1	R	96,59	R
IT93K-503-1	14556	a3	3,18	a1	4902	a2	1,16	a1	S	94,07	MR
BRS NOVAERA	19792	a3	17,18	a3	1097	a1	1,58	a1	S	92,04	MR
BRS ITAIM	21990	a3	15,63	a3	1675	a1	1,75	a1	S	91,05	MR
BRS INHUMA	25879	a4	16	a3	1574	a1	2,07	a2	S	89,45	MR
BRS CAUAMÉ	29251	a4	17,7	a3	266	a1	2,33	a2	S	88,09	MR
NIL-2 genes	33133	a4	1,86	a1	18852	a3	2,65	a2	S	86,49	MR
IT89KD-288	35711	a4	5,29	a2	7201	a2	2,85	a2	S	85,45	MR
BRS PAJEÚ	36809	a4	10,18	a2	3929	a2	2,94	a2	S	85	MR
BRS JURUÁ	41403	a5	3,38	a1	32636	a4	3,31	a2	S	83,1	MR
CB3-gg	43330	a4	3,11	a1	3521	a2	3,46	a2	S	82,31	MR
BRS POTENGI	48504	a5	21,1	a3	2662	a1	3,87	a2	S	80,21	MR
BRS ROUXINOL	51630	a5	10,33	a2	7638	a2	4,13	a2	S	78,94	MR
NIL-3 genes	53487	a5	2,26	a1	28113	a4	4,27	a2	S	78,18	MR
BRS MARATAOÃ	56868	a5	28,3	a4	2064	a1	4,54	a2	S	76,8	MR
BR 17GURGUÉIA	69246	a5	13,01	a3	5399	a2	5,53	a3	S	71,74	PR
CB46 – Null	76240	a5	2,53	a1	27144	a4	6,09	a3	S	68,88	PR
BRS CARAGUAÇU	80409	a6	7,3	a2	1590	a1	6,43	a3	S	67,17	PR
BRS GUARIBA	101755	a6	10,04	a2	11821	a3	8,14	a4	S	58,45	PR
BRS TUMUCUMAQUE	112623	a6	18,06	a3	6473	a2	9	a4	S	54,02	PR
BRS PINGO DE OURO	115753	a6	28,59	a4	8636	a2	9,26	a4	S	52,73	PR
BRS XIQUEXIQUE	84935	a6	19,39	a3	4946	a2	9,89	a4	S	49,5	S
BRS ARACÊ	244864	a7	8,43	a2	5476	a2	19,58	a5	S	0	AS ³
SANTA CLARA	42583		23		1.886		3		S		
CV (%)	4,42		25.26		36.86		18.12				

Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si (Scott Knot, 5% de probabilidade);

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

2 Classificação proposta por Moura & Régis (1987), onde AS = Altamente suscetível; S = Suscetível; PR = pouco resistente; MR = moderadamente resistente; R = resistente; AR = altamente resistente, com base em Pi = 12000 ovos. * Transformações realizadas: o Índice de galhas, Peso da raiz e Nematóide por grama de raiz, para log (x) e fatores de reprodução para raiz, médias apresentadas são as originais sem transformação.

3 Padrão de reação.

4.2.2.2 *Meloidogyne incognita*

Analisando individualmente cada um dos experimentos com *M. incognita*, no primeiro, quatro grupos de genótipos foram formados em relação ao peso fresco da raiz (PFR), sendo que BRS Rouxinol foi a que apresentou o maior PFR (9,35 gramas) e NIL-2genes o menor (0,82). Oito genótipos tiveram o PFR intermediários que variaram de 3,31 a 4,62 gramas e 11 genótipos com PFR menores variando de 0,82 – 2,67 (Tabela 5). Os números médios de nematoides por grama de raiz (NGR) variaram de 14 (BRS Itaim) a 86.468 (BRS Guariba). Em relação ao número total de nematoides (Juvenis e Ovos) encontrados ao final do ensaio, BRS Potengi, NIL-2genes, BRS Imponente, BRS Itaim, BRS Pajeú e IT89KD-288 apresentaram os menores números 29, 36, 81, 147, 177 e 259, respectivamente. A BRS Guariba apresentou os maiores números de ovos e juvenis (125.957) presentes em seu sistema radicular. Em relação ao fator de reprodução, genótipos com exceção de BRS Marataoã, CB3-gg, BRS Inhuma, BRS Cauamé, BRS Juruá, BRS Tumucumaque, BRS Xiquexique e BRS Guariba, tiveram o FR menor do que o valor um (Tabela 5).

No segundo experimento, o maior PFR foi obtido na cultivar BRS Marataoã (9,83 gramas) e assim como no primeiro ensaio o menor foi NIL-2genes (0,59). O NGR variou de 12 (BRS Rouxinol) a 36.897 (BRS Guariba), a qual também teve o maior NGR no primeiro ensaio. Os genótipos IT89KD-288, IT84S-2049, IT93K-503-1, NIL-2 genes e BRS Milênio também se destacaram por apresentar baixos NGR. A cultivar BRS Guariba também foi a que apresentou o maior número de nematoides na raiz e consequentemente o maior FR. Os genótipos BRS Itaim, NIL-2 genes, IT93K-503-1, IT84S-2049, BRS Fradinho, NIL-3genes apresentaram as menores PF. Dos 26 genótipos avaliados, apenas nove (BRS Aracê, BRS Pingo de ouro, CB46-null, BRS Cauamé, BRS Rouxinol, BRS Juruá, BRS Tumucumaque, BRS Xiquexique e BRS Guariba não apresentaram os FR menores do que o valor 1 (Tabela 6).

Dos 26 genótipos de feijão-caupi avaliados, 12 genótipos (NIL-2genes; IT84S-2049; IT89KD-288, BRS Milênio; IT93K-503-1; NIL-3genes; BRS Imponente; BRS Novaera; BRS Itaim; BRS Potengi; BRS Caraguaçu e BRS Pajeú) foram selecionados como resistentes a *M. incognita*, baseado nos dados de multiplicação do nematoide. Os 12 genótipos comportaram-se como resistentes nos dois experimentos, independentemente do método de classificação adotado. Desses genótipos, sete (BRS Milênio; BRS Imponente; BRS Novaera; BRS Itaim; BRS Potengi; BRS Caraguaçu e BRS Pajeú) das 19 cultivares brasileiras avaliadas, foram selecionadas como resistentes, levando-se em consideração a multiplicação dos nematoides, semelhantemente à cinco dos padrões de resistência incluídos nos ensaios (Tabela 5 e 6).

Tabela 5. Reação de acessos de feijão-caupi inoculado com 12.000 ovos e eventuais juvenis de *M. incognita*, baseada no Peso da raiz (PFR), Nematoides por grama de raiz (NGR), Fator de reprodução (FR), Redução do FR (%RFR), População Final (PF) do bioensaio 1 (Período de realização 12/2018 a 02/2019).

Genótipo	PF		PRF		NGR		FR		Reação ¹	%RFR	Reação ²
NIL-2genes	36	a2	0,82	a1	58	a1	0	a1	R	0	AR
BRS ITAIM	147	a2	3,44	a2	14	a1	0	a1	R	99,97	R
BRS FRADINHO	410	a3	1,21	a1	133	a1	0,02	a1	R	99,86	R
IT84S – 2049	875	a3	1,96	a1	110	a1	0,02	a1	R	99,84	R
BRS IMPONENTE	81	a1	1,21	a1	466	a2	0,04	a1	R	99,61	R
IT89KD-288	259	a2	1,82	a1	183	a2	0,03	a1	R	99,71	R
IT93K-503-1	1926	a3	2,4	a1	201	a2	0,04	a1	R	99,61	R
NIL-3genes	2878	a3	1,59	a1	803	a1	0,04	a1	R	99,61	R
BRS POTENGI	29	a2	4,18	a2	179	a1	0,05	a1	R	99,54	R
BRS MILÊNIO	573	a2	2,09	a1	450	a2	0,07	a1	R	99,37	R
CB46-null	2368	a3	8,49	a3	155	a1	0,15	a1	R	98,57	R
BRS CARAGUAÇU	4437	a3	7,09	a3	404	a2	0,19	a1	R	98,13	R
BRS NOVAERA	13662	a4	3,32	a2	788	a2	0,25	a1	R	97,65	R
BRS PAJEÚ	177	a2	3,88	a2	1367	a3	0,38	a1	R	96,39	R
BRS PINGO DE OURO	13421	a3	2,67	a1	2535	a3	0,43	a1	R	96	R
BRS ROUXINOL	12295	a3	9,35	a3	363	a1	0,44	a1	R	95,84	R
BR 17 GURGUÉIA	7753	a3	1,03	a1	10571	a3	0,63	a1	R	94	MR
BRS ARACÊ	9319	a3	4,27	a2	1348	a2	0,79	a1	R	92,51	MR
BRS MARATAOÃ	4982	a3	8,19	a3	2031	a2	1,07	a1	S	89,82	MR
CB3-gg	6325	a3	1,54	a1	9552	a2	1,12	a1	S	89,33	MR
BRS INHUMA	18117	a4	3,33	a2	3577	a3	1,12	a1	S	89,31	MR
BRS CAUAMÉ	5281	a3	3,31	a2	7571	a3	1,51	a1	S	85,59	MR
BRS JURUÁ	36478	a4	7,75	a3	5280	a3	3,03	a2	S	71,06	PR
BRS TUMUCUMAQUE	68564	a4	5,14	a3	14681	a3	5,74	a3	S	45,22	S
BRS XIQUEXIQUE	114194	a4	5,27	a3	15331	a3	5,83	a3	S	44,41	S
BRS GUARIBA	125957	a4	4,62	a2	86468	a3	10,48	a3	S	0	AS ³
SANTA CLARA	100506		8		22.149		8		S		
CV (%)	24,35		33,04		27,69		36,71				

Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si (Scott Knot, 5% de probabilidade);

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

2 Classificação proposta por Moura & Régis (1987), onde AS = Altamente suscetível; S = Suscetível; PR = pouco resistente; MR = moderadamente resistente; R = resistente; AR = altamente resistente, com base em Pi = 12.000 ovos. * Transformações realizadas: o Índice de galhas, Peso da raiz e Nematóide por grama de raiz, para log (x) e fatores de reprodução para raiz, médias apresentadas são as originais sem transformação.

3 Padrão de reação.

TABELA 6. Reação de acessos de feijão-caupi inoculado com 12.000 ovos e eventuais juvenis de *M. incognita*, baseada no Peso da raiz (PFR), Nematoides por grama de raiz (NGR), Fator de reprodução (FR), Redução do FR (%RFR) e População Final (PF) do bioensaio 2 (Período de realização 10/2019 a 12/2019).

Genótipo	PF		PFR		NGR		FR		Reação ¹	%RFR	Reação ²
NIL-2genes	32	a2	0,59	a1	88	a1	0,002	a1	R	99,98	R
IT84S – 2049	147	a2	2,53	a2	41	a1	0,01	a1	R	99,92	R
IT89KD-288	410	a3	3,12	a2	31	a1	0,01	a1	R	99,94	R
BRS MILÊNIO	875	a3	2,17	a2	173	a1	0,02	a1	R	99,85	R
IT93K-503-1	81	a1	2,21	a2	58	a1	0,06	a1	R	99,55	R
NIL-3genes	259	a2	1,82	a2	614	a2	0,07	a1	R	99,46	R
BRS IMPONENTE	1926	a3	1,05	a1	875	a2	0,08	a1	R	99,42	R
BRS NOVAERA	2878	a3	3,55	a2	1189	a2	0,24	a1	R	98,17	R
BRS ITAIM	29	a2	2,18	a2	1303	a2	0,22	a1	R	98,31	R
BRS POTENGI	573	a2	5,37	a3	800	a2	0,29	a1	R	97,73	R
BRS CARAGUAÇU	2368	a3	8,91	a4	404	a2	0,3	a1	R	97,73	R
BRS PAJEÚ	4437	a3	5,22	a3	799	a2	0,33	a1	R	97,46	R
BRS INHUMA	13662	a4	3,76	a3	1666	a2	0,53	a1	R	95,96	MR
BRS FRADINHO	177	a2	1,41	a1	4945	a3	0,59	a1	R	95,44	MR
CB3-gg	13421	a3	2,16	a2	3736	a3	0,63	a1	R	95,19	MR
BRS MARATAOÃ	12295	a3	9,83	a4	912	a2	0,74	a2	R	94,31	MR
BR 17 GURGUÉIA	7753	a3	1,13	a1	8876	a3	0,8	a2	R	93,85	MR
BRS ARACÊ	9319	a3	4,4	a3	3984	a3	1,05	a2	S	91,92	MR
BRS PINGO DE OURO	4982	a3	2,61	a2	5171	a3	1,14	a2	S	91,23	MR
CB46-null	6325	a3	2,06	a2	5851	a2	1,35	a3	S	89,62	MR
BRS CAUAMÉ	18117	a4	4,07	a3	5023	a3	1,65	a3	S	87,3	MR
BRS ROUXINOL	5281	a3	6,07	a4	12	a2	1,85	a3	S	85,77	MR
BRS JURUÁ	36478	a4	8,68	a3	20642	a3	5,2	a4	S	60	PR
BRS TUMUCUMAQUE	68564	a4	7,48	a4	9026	a3	5,58	a4	S	57,12	PR
BRS XIQUEXIQUE	114195	a4	4,76	a3	20034	a3	7,97	a5	S	38,72	S
BRS GUARIBA	125958	a4	4,39	a3	36897	a3	13	a6	S	0	AS ³
SANTA CLARA	100506		6		24.058		12		S		
CV (%)	24,35		19,97		21,35		12,21				

Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si (Scott Knot, 5% de probabilidade);

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

2 Classificação proposta por Moura & Régis (1987), onde AS = Altamente suscetível; S = Suscetível; PR = pouco resistente; MR = moderadamente resistente; R = resistente; AR = altamente resistente, com base em Pi = 12000 ovos. * Transformações realizadas: o Índice de galhas, Peso da raiz e Nematóide por grama de raiz, para log (x) e fatores de reprodução para raiz, médias apresentadas são as originais sem transformação.

3 Padrão de reação.

4.2.2.3 *Meloidogyne javanica*

Analisando o experimento com *M. javanica*, quatro grupos de genótipos foram formados em relação ao peso fresco da raiz (PFR), sendo que BR 17 Gurguéia foi a que apresentou o maior PFR (41 gramas) e CB46-null o menor (2,55). Os números médios de nematoides por grama de raiz (NGR) variaram de 198 (BRS Milênio a 1) 14.834 (BRS Aracê). Em relação ao número total de nematoides (Juvenis e Ovos) encontrados ao final do ensaio, BRS Imponente, IT84S-2049, IT89KD-288, IT93K-503-1, BRS Milênio e NIL-2genes, apresentaram os menores números 54.400, 9.115, 6.150, 5.437, 2.138 e 6.395, respectivamente. A BRS Aracê apresentou os maiores números de ovos e juvenis (120.847) presentes em seu sistema radicular. Dos 26 genótipos de feijão-caupi avaliados, 6 genótipos (BRS Imponente, IT84S-2049, IT89KD-288, IT93K-503-1, BRS Milênio e NIL-2genes) foram selecionados como resistentes a *M. javanica*, baseado nos dados de multiplicação do nematoide, resultando em FR menor que o valor um (Tabela 7). Os seis genótipos comportaram-se como resistentes de acordo com a classificação de Oostenbrink (1966) e apenas dois (BRS Milênio e BRS Imponente) foram considerados conforme o sistema de classificação de Moura & Régis (1987). Os padrões resistentes incluídos no ensaio confirmaram a resistência, com exceção de NIL-3genes.

TABELA 7. Reação de acessos de feijão-caupi inoculado com 10.000 ovos e eventuais juvenis de *M. javanica*, baseada no Peso da raiz (PFR), Nematoides por grama de raiz (NGR), Fator de reprodução (FR), Redução do FR (%RFR) e População Final (PF) do bioensaio 1.

Genótipo	PF		PFR		NGR		FR		Reação ¹	%RFR	Reação ²
BRS MILÊNIO	2138	a1	9,89	a2	198	a1	0,21	a1	R	98,23	R
BRS IMPONENTE	54400	a1	10,17	a2	662	a1	0,54	a1	R	95,5	R
IT93K-503-1	5437	a1	16,04	a2	486	a1	0,54	a1	R	95,5	MR
IT89KD-288	6150	a1	21,52	a3	327	a1	0,62	a1	R	94,91	MR
NIL-2 genes	6395	a1	3,5	a1	1588	a2	0,64	a1	R	94,72	MR
IT84S- 2049	9115	a1	7,96	a1	1109	a2	0,91	a1	R	92,44	MR
NIL-3 genes	135090	a2	4,37	a1	4530	a3	1,35	a1	S	88,82	MR
BRS NOVAERA	16301	a2	11,48	a3	1369	a2	1,63	a1	S	86,51	MR
CB3-gg	19007	a2	2,95	a1	7697	a3	1,9	a1	S	84,27	MR
BRS FRADINHO	20563	a3	5,01	a1	4084	a3	2,06	a1	S	82,98	MR
CB46 – Null	22833	a2	2,55	a1	6951	a3	2,28	a1	S	81,11	MR
BRS PINGO DE OURO	28548	a3	21,69	a3	1947	a2	2,86	a2	S	76,36	MR
BRS CARAGUAÇU	29690	a3	28,59	a4	1033	a2	2,97	a2	S	75,43	PR
BRS PAJEÚ	30569	a3	20,87	a3	1797	a2	3,06	a2	S	74,71	PR
BRS ROUXINOL	33938	a3	24,1	a3	2044	a2	3,39	a2	S	71,92	PR
BRS MARATAOÃ	36993	a3	24,53	a3	1898	a2	3,69	a2	S	69,4	PR
BRS XIQUEXIQUE	38035	a3	33,15	a4	1168	a2	3,8	a2	S	68,53	PR
BR 17GURGUÉIA	39509	a3	41	a4	1042	a2	3,95	a2	S	67,33	PR
BRS CAUAMÉ	39676	a3	16,69	a3	2711	a2	3,97	a2	S	67,18	PR
BRS POTENGI	42298	a3	21,78	a3	1711	a2	4,23	a2	S	65	PR
BRS ITAIM	46730	a3	31,89	a4	1518	a2	4,67	a2	S	61,33	PR
BRS GUARIBA	48001	a3	27,13	a4	1859	a2	4,8	a2	S	60,29	PR
BRS JURUÁ	49287	a3	23,87	a4	2163	a2	4,93	a2	S	59,21	PR
BRS INHUMA	53697	a3	39,78	a4	1554	a2	5,37	a2	S	55,57	PR
BRS TUMUCUMAQUE	54242	a3	14,54	a3	3976	a3	5,43	a2	S	55,12	PR
BRS ARACÊ	120847	a3	14,76	a3	14834	a3	12,09	a3	S	0	AS ³
SANTA CLARA	23145		5,98		4.202		2,32		S		
CV (%)	8,89		21,91		12,93		26,42				

Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si (Scott Knot, 5% de probabilidade);

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

2 Classificação proposta por Moura & Régis (1987), onde AS = Altamente suscetível; S = Suscetível; PR = pouco resistente; MR = moderadamente resistente; R = resistente; AR = altamente resistente, com base em Pi = 10000 ovos. * Transformações realizadas: o Índice de galhas, Peso da raiz e Nematóide por grama de raiz, para log (x) e fatores de reprodução para raiz, médias apresentadas são as originais sem transformação.

3 Padrão de reação.

4.2.2 Análise de correlação entre os experimentos

Com base nas análises de correlação entre os experimentos 1 e 2, houve uma elevada correlação positiva e significativa com 95% de confiabilidade entre os experimentos para *M. incognita*, tanto para o índice de galhas (0,90) quanto para o fator de reprodução (0,98) (Figura 9 a e b). Entre os ensaios realizados com *M. enterolobii*, houve uma interação baixa e positiva (0,36), mas não significativa para o índice de galhas. Entretanto, quando comparados os dados de fator de reprodução entre os ensaios, foi encontrada uma correlação positiva (0,79) e significativa (Figura 9 c e d).

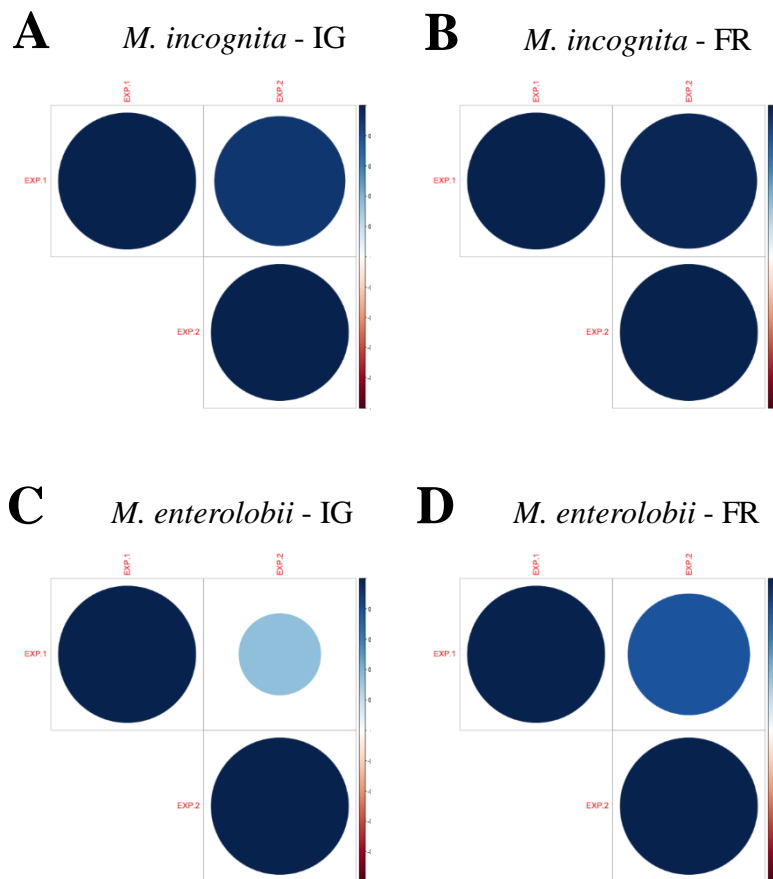


Figura 9. Análise de correlação entre os experimentos 1 e 2 para *M. enterolobii* e *M. incognita*, utilizando índices de galhas e os fatores de reprodução. Correlação de Pearson (r), $p \leq 0,05$.

5. DISCUSSÃO

Nas áreas amostradas no presente estudo, o gênero *Meloidogyne* se fez presente em duas delas, porém faz-se necessário futuramente a expansão do levantamento para outras áreas produtoras da cultura, a fim de se conhecer mais exaustivamente quais espécies de nematoides prevalecem em tais regiões. Pouco se sabe atualmente sobre quais as principais espécies de *Meloidogyne* spp. estão ocorrendo em plantios de feijão-caupi onde são plantadas as principais cultivares brasileiras, as quais foram utilizadas no presente estudo (ROCHA, 2017). Além disso, sabe-se que *Meloidogyne* spp. é um dos gêneros mais importantes nos cultivos de feijão-caupi, por ser um dos gêneros limitantes a sua produção (ROBERTS et al., 1996; EHLERS, 2000).

Além da detecção do gênero *Meloidogyne*, outros gêneros como *Pratylenchus* e *Rotylenchulus* foram detectados nas áreas amostradas, validando as informações da literatura, de que esses nematoides ocorrem nas principais regiões do Brasil e do mundo onde se cultiva o feijão-caupi (EVANS et al., 1986; PONTE, 1987 e SARRET et al., 1989). Sabe-se que *P. brachyurus*, *M. javanica* e *R. reniformis* causam perdas econômicas significativas no feijão-caupi (CANEVESS, 1973; OGUNFOWORA, 1976) e nas culturas com as quais é cultivado em sucessão, como por exemplo milho e soja, que por serem hospedeiras alternativas desses nematoides tem tornado o controle difícil (FILHO, 2017). Por essa razão, é tão importante a seleção de genótipos de feijão-caupi resistentes ou tolerantes, com a finalidade de controle desses nematoides nas áreas de cultivo.

No presente estudo, apesar de preliminar, foi possível encontrar cultivares com potencial resistência à *M. javanica*, um dos principais nematoides do feijão-caupi e da soja. Levando em consideração que atualmente no Brasil o feijão-caupi vem sendo plantado em sucessão a cultura da soja (FILHO, 2011). Após estudos mais detalhados, essas cultivares serão uma excelente opção de plantio para áreas onde se plantam o feijão-caupi após a soja em áreas infestadas com o nematoide.

Em relação a *M. incognita* e as cultivares brasileiras, essas tiveram basicamente o mesmo grau de resistência dos genótipos conhecidamente resistentes incluídos nos ensaios, como IT84S-2049, IT89KD-288, NIL-2genes e NIL-3genes. Dessa forma, se considerarmos que esses genótipos carregam pelo menos o gene de resistência Rk, é muito provável que as cultivares brasileiras estejam carregando o mesmo gene, que por sua vez confere resistência a ao nematoide em questão. De acordo com EHLERS et al. (2002), o gene Rk é efetivo contra diferentes populações de nematoides das galhas, principalmente para *M. incognita*, e por essa

razão foi introduzido nas cultivares modernas via melhoramento convencional usando seleção fenotípica.

O fato de que a maior parte das cultivares comerciais terem resistência genética ao nematoide das galhas conferida pelo gene dominante (Rk), aumenta-se o risco de populações de *Meloidogyne* spp. evoluírem e ocorrer a quebra da resistência. Como o manejo desse nematoide depende de uma estreita base genética de resistência (ROBERTS et al., 1997) derivada do pool genético do feijão-caupi (HUYNH et al., 2013), a identificação de fontes adicionais de resistência no pool genético do feijão-caupi é fundamental para o desenvolvimento de resistência genética durável.

Segundo ALMEIDA et al., (2008) e OLIVEIRA (2010) *M. enterolobii* reproduz-se em plantas de feijão-caupi e de soja. Porém, não existem dados na literatura que descrevam resistência para *M. enterolobii*. Deste modo, este trabalho vem contribuir de forma significativa para estudos posteriores da espécie no feijão-caupi. Os genes de resistência conhecidos e presentes nos genótipos controles, mesmo conferindo resistência para as populações brasileiras de *M. incognita* e *M. javanica*, nem sempre conferiram resistência para *M. enterolobii*. Isso indica que outros genes poderiam estar envolvidos na resistência a essa espécie. A resistência encontrada para *M. enterolobii* nas cultivares BRS Milênio e BRS Fradinho é de fundamental importância para indicação de plantio em áreas onde se faz a rotação de culturas com espécies de plantas suscetíveis à este nematoide, fazendo com que sua população em campo seja reduzida.

Dentre todas as cultivares, a cultivar BRS Milênio se comportou como resistente às três espécies de nematoides avaliadas, mostrando que esse material pode carregar diferentes genes de resistência conferindo resistência múltipla a essas espécies. Essa mesma cultivar também é resistente a Mancha Café (doença bacteriana) e ao Mosaico Dourado do feijão-caupi (vírus) (FILHO, 2011) o que a torna mais atrativa para áreas com alta infestação dessas doenças.

Nos bioensaios realizados com *M. incognita*, a BRS Novaera e a BRS Pajeú se comportaram como resistentes e segundo ROCHA et al, (2017), assim como a BRS Milênio, esse genótipos também são resistentes a Mancha Café (doença bacteriana) e ao Mosaico Dourado do feijão-caupi (vírus), respectivamente. Essas duas cultivares são excelentes opções de recomendações para cultivos em áreas infestadas para estas espécies de nematoides e doenças.

Vale ressaltar que no primeiro experimento com *M. incognita*, a BRS Guariba apresentou IG 1 e FR 10,48, mostrando que assim como ocorreu em *M. enterolobii*, os dois

fatores não são controlados pelos mesmos fatores genéticos. Segundo NDEVE (2019), a relação entre IG e FR pode estar em parte sob controle de fatores genéticos independentes, fazendo com que a baixa formação de galhas, não seja controlada pelo mesmo gene que possibilita a alta reprodução dos nematoides. Apesar da escala de PAGE & BRIDGE (1980), ser amplamente utilizada em feijão-caupi e também em outras culturas, como melão, soja e tomate (OTIPA, 2003; RITZINGER et al., 2014 e MATINEZ, 2014), o método de fenotipagem pode não ser tão eficiente e resultar em baixos IG, porém altos FR, uma vez que a avaliação visual da presença de galhas, acarreta que galhas muito pequenas podem passar despercebidas e resultar em baixo valor de IG.

Os genótipos suscetíveis como BRS Rouxinol, apresentou alto IG e alto FR nos bioensaios com *M. enterolobii*, assim como a BRS Tumucumaque nos dois bioensaios com *M. incognita*, e com a BRS Inhumana no bioensaio com *M. javanica*. Pereira (2013), relata o mesmo comportamento para o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), onde provavelmente, IG e FR podem estar sendo controlados pelo mesmo fator genético.

Mesmo que os valores de FR muito baixos podem ser explicados pela resistência conferida nos genótipos devido a expressão de genes de resistência na planta, que podem dificultar a reprodução do nematoide, a fenotipagem precisa das plantas inoculadas é fundamental, considerando que os métodos de determinação do FR podem subestimar os números, reforçando a necessidade de delineamento experimental com a inclusão de várias réplicas biológicas, como foi o caso no estudo atual. Segundo CARNEIRO et al., (2006), o método utilizado para extração de ovos não tem 100% de eficiência, pois ovos podem ser perdidos durante o processamento das raízes e passagem pelas peneiras, subestimando-se o número de ovos extraídos.

Os valores para FR na cultivar Santa Clara (cultivar de tomate suscetível ao gênero *Meloidogyne*) foram menores do que em algumas cultivares de feijão-caupi. Isso pode ser explicado pelo fato de a quantidade de ovos e eventuais juvenis inoculados, serem superior a quantidade que a planta consegue suportar sem deteriorar suas raízes.

A identificação de fontes comerciais de resistência às espécies prevalentes de nematoides das galhas no Brasil fornece contribuição importante para a expansão contínua do cultivo de feijão-caupi no país. Não existem cultivares brasileiras de feijão-caupi recomendadas para resistência a *Meloidogyne* spp. No entanto, o programa de melhoramento genético da Embrapa tem procurado além do aumento da produtividade, melhor adaptabilidade e estabilidade da produção; conseguir a resistência a pragas e doenças (FILHO, 2011).

O conhecimento futuro dos genes que atuam na resistência ao nematoide das galhas será de fundamental importância para a introgressão de um único gene de resistência ou a piramidação desses genes em cultivares altamente produtivas, porém suscetíveis (ROBERTS et al., 1996, 1997; EHLERS et al., 2000, 2002 e SANTOS et al., 2018).

6. CONCLUSÃO

Dada a grande importância do gênero *Meloidogyne* no Brasil e para o feijão-caupi, estudos sobre as nematoses que ocorrem na cultura são de extrema importância para se obter métodos mais eficazes de controle, tornando o cultivo mais rentável e competitivo. Uma das formas de controle mais promissoras visadas atualmente é a resistência genética, por tanto, esse estudo contribui para pesquisas futuras nessa área. A caracterização de germoplasma referente a resistência foi útil para a identificação de fontes de alelos de resistência para introgridir em cultivares, para a recomendação de genótipos resistentes apropriados para regiões produtoras, levando em consideração da prevalência de gêneros de nematoides das galhas presentes.

Encontrar resistência para *M. enterolobii*, *M. javanica* e *M. incognita* é um passo importante para futuras melhorias nos campos de cultivo com feijão-caupi e isso foi possível com este estudo. A caracterização dos mecanismos envolvidos na resistência, por meio de análise molecular da presença potencial dos genes de resistência já conhecidos (RK, RK2, QRk-vu9.1 e rk3), e análises transcriptômicas da interação entre genótipos resistentes e os nematoides das galhas, possibilitará a identificação de genes do hospedeiro diferencialmente expressos na interação e envolvidos em respostas de defesa. O desenvolvimento de marcadores moleculares para tais genes servirá para seleção assistida, acelerando os programas de melhoramento de feijão-caupi.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, P, J.; GOUZQ, A.J.M.; CASTAGNONE-SERENO, P.; DANCHIN, E.G.J.; DELEURY, E.; Sequência do genoma do nematoide parasita de plantas metazoárias *Meloidogyne incognita*. Nat Biotechnol. V.26, p.909-924, 2008.

ALMEIDA, E.J.; SANTOS, J.M.; MARTINS, A.B.G.; ALVES, G.C.S.; Reação de frutíferas nativas da Amazônia brasileira a *Meloidogyne enterolobii*. Scientia Agraria, Curitiba. v.12, n.4, p.219-222, 2011.

ATAMIAN, H. S.; ROBERTS, P. A.; KALOSHIAN, I.; Telas de alto e baixo rendimento com nematoides das galhas *Meloidogyne* spp. J Vis Exp. V.61, p.3629, 2012.

BRASS, E. B.; VERONEZZE, N. C.; PACHECO, E.; BOSQUÊ, G. G.; Aspectos biológicos do *Meloidogyne* spp. relevantes à cultura de café. Revista Científica Eletônica de Agronomia. n.14, 2008.

BRIDGE, J.; PAGE, S.L.J.; Estimation of Root-knot Nematode Infestation Levels on Roots Using a Rating Chart. Tropical Pest Management. V.26, p.296-298, 1980.

BRIDGE J.; COYNE, D.; KWOSEH C.K. Nematode parasites of tropical root and tuber crops (excluding potatoes). In: LUC, M.; SIKORA, R.; BRIDG, E. J.; (ed.). Plant parasitic nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. 2nd ed. CABI Publishing. Wallingford, UK. p.221-258. 2005.

BYRD, D. W.; KIRKPATRICKK, T.; BARKER, K.R.; An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. Journal of Nematology V.15(1), p.142-143,1983.

CARDOSO, M.J. (Org.). A cultura do feijão-caupi no Meio-Norte do Brasil: 1. Feijão caupi - cultivo. I. Embrapa Meio-Norte Teresina (PI). II. Título. III. Série. Teresina:Embrapa Meio-Norte: Circular Técnica, v.28, p.264, 2000.

CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIRA, M.R.A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides das galhas do cafeeiro no Brasil. *In: Simpósio de Pesquisa de Cafés do Brasil, Poços de Caldas (Resumos)*. p.280-282, 2001.

CARNEIRO, R.M.D.G.;. Gênero *Meloidogyne*: diagnose através de eletroforese de isoenzimas e marcadores SCAR. *In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S.; Diagnose de fitonematoides. Campinas: Millennium Editora, 2016.*

CAVENESS, F. E.; Cowpea, lima bean, cassava, yams, and *Meloidogyne* spp. in Nigeria. *In: Lamberti, F.; TAYLOR, C. E.; eds. Root-knot nematodes (Meloidogyne species) systematics, biology and control. London and New York: Academic Press. p.295- 300, 1979.*

CERON, C.R.; SANTOS, J.R.; CAMPOS, B.H.M.C.; The use of gelatin to dry cellophane wound slab gels in an embroidering hoop. *Rev. Brasil. Genet.* v.15(1), p.201-203, 1992.

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

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL. Agronegócio contribui para queda da inflação e geração de empregos em 2017. *Confederação de Agricultura e Pecuária do Brasil; Brasília, 2017.*

Disponível em: <<http://www.cnabrazil.org.br/noticias/agronegocio-contribui-para-queda-da-inflacao-e-geracao-de-empregos-em-2017>>. Acesso em: 09 de abril de 2018.

COOFLEN, W. A.; D'HERDE, C. J.; A method for quantitative extraction of nematodes from plant tissue. *Merebelke, State Nematology Research Station. p.77, 1972.*

DALMASSO, A.; BERGÉ, J.B.; Molecular polymorphism and phylogenetic relationship in some *Meloidogyne* spp.: Application to the taxonomy of *Meloidogyne*. *Journal of Nematology*, v.10, n.323, 1978.

DASHIELL, k.E.; JACKAI, L.E.N.; MONHAN RAJ, D.R.; SINCH, B.B.; JACKAI, E.D.S.; Advances in cowpea research. Ibadan, Nigeria: International Institute for Tropical Agriculture, 1997.

DISPONIVEL EM: <https://www.embrapa.br/meio-norte/historia-caupi> ACESSO EM: 20 DE DEZEMBRO DE 2019.

DISPONIVEL EM: <https://www.sonoticias.com.br/agronoticias/definido-zoneamento-agricola-do-feijao-caupi-em-mato-grosso/> ACESSO EM: 20 DE DEZEMBRO DE 2019.

DISPONIVEL EM: [https://www.noticiasagricolas.com.br/dbarquivos/ata-completa-caupi-\(1\).pdf](https://www.noticiasagricolas.com.br/dbarquivos/ata-completa-caupi-(1).pdf) ACESSO EM: 01 DE JANEIRO DE 2020.

EHLERS, J.D.; MATTHEWS, W.C.; HALL, A.E.; ROBERTS, P.A.; Herança de uma forma ampla de resistência ao nematoide das galhas no feijão-caupi. *Crop Sci.* v.40, p.611-618, 2000.

EHLERS, J.D.; MATTHEWS, W.; HALL, A.; ROBERTS, P.; Criação e avaliação de feijão-caupi com altos níveis de ampla resistência a nematóides do nó da raiz. In: FATOKUN, C.;

ARAWALI, S.; SINGH, B.; KORMAWA, P.; TAMO, M.; Ed. Desafios e oportunidades para melhorar a produção sustentável do feijão caupi Procedimentos da Conferência Mundial do Feijão Caupira. Ibadan: Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA). p.41–51, 2002.

EHLERS, J.D.; SANDEN, B.L.; FRATE, C.A.; HALL, A.E.; ROBERTS, P.A.; Registro do caupi 'California Blackeye 50'. *J Regist da planta.* v.3, p.236-240, 2009.

EVANS, A.A.F.; RAZAK, A.R.; An intercellular tube associated with feeding by *tylenchulus reniformis* on cowpea root. *Nematologica.* v.22, p.182-189, 1976.

FERY, R.L.; DUKES, P.D.; Herança da resistência ao nematoide das galhas no caupi (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). *J Am Soc Hortic Sci.* v.105, p.671-674, 1980.

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

FERRAZ, L.C.C.B.; MONTEIRO, A.R.; Nematoides. In: AMORIM, L.; KIMATI, H.; BERGAMIM FILHO, A. (ed.). Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos. 4ªed. Agronômica Ceres. São Paulo. p.168-199, 2011.

FILHO, F. R. F.; Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios. Teresina: 1. Feijão de corda. 2. Sistema de produção. 3. Cadeia produtiva. 4. Agronegócio. Ed: I. Francisco Rodrigues Freire Filho. II. Embrapa Meio-Norte. p.84, 2011.

FREITAS, L. G. Introdução à nematologia. Viçosa: UFV. p.94, 2001.

GOULART, A.M.C.; CARES, J.E.; FERRAZ, L.C.C.B.; Ecologia e biodiversidade de nematoides- parte I. Revisão Anual de Patologia de Plantas – RAPP. v.17, p.149-188, 2009.

HUYNH, B.L.; MATTHEWS, W.C.; EHLERS, J.D.; LUCAS, M.R.; SANTOS, J.R.; NDEVE, A.; A major QTL corresponding to the Rk locus for resistance to root-knot nematodes in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). Theor Appl Genet. v.129(1), p.87–95, 2016.

HUYN, B.L.; EHLERS, J.D.; NDEVE, A.; WANAMAKER, S.; LUCAS, M.R.; CLOSE, T.J.; ROBERTS, P.A.; Mapeamento genético e síntese de leguminosas da resistência ao pulgão em feijão-caupi africano (*Vigna unguiculata* L. Walp.) Cultivado na Califórnia. Mol Breed. v.35, p.1–9, 2015.

HUNT, D.J.; HANDOO, Z.A.; 2009. Taxonomy, identification and principal species. In: PERRY, R.N., M. MOENS & J.L. STARR (ed) Root-Knot Nematodes. CABI, Wallingford, p. 55-97.

JENKINS, W. R.; A rapid centrifugal flotation technique for separating nematode from soil. Plant Disease Reporter. v.48, p.62.

LIMA, C.S.; Manejo de doenças. In: Vale, J.C.; Feijão – caupi do plantio à colheita. Viçosa: Editora UFV. p.143-170, 2001.

LORDELLO, L.G.E; Nematoides de plantas cultivadas. 9ª ed. São Paulo. Nobel. p.356, 1992.

MITKOWSK, N.A.; ABAWI, G.S.; The Plant Health Instructor. 2003.

MOTA, F. C.; Análise de fontes de resistência do algodoeiro a *Meloidogyne incognita* raça 3 e caracterização histopatológica da interação planta-nematoide. Dissertação de Mestrado em Fitopatologia. Universidade de Brasília. p.76, 2010.

MOUTRA, R.M.; O gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose parte III – resenha histórica. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica, Recife. v.13/14, p.93-144, 2016/2017.

MUCHERO, W.; EHLERS, J.D.; CLOSE, T.J.; ROBERTS, P.A.; Marcadores SNP genéticos e sintenização de leguminosas revelam genes candidatos subjacentes ao QTL para resistência e maturidade de *Macrophomina phaseolina* em feijão-caupi *Vigna unguiculata* (L) Walp. BMC Genom. v.12, p.8. 2011.

NDEVE, A.D.; SANTOS, J.R.P.; MATTHEWS, W.C.; HUYNH, B.L.; GUO, Y.; LO, S.; MUÑOZ-AMATRIÁIN, M.; ROBERTS, P.A.; Novel Root-Knot Nematode Resistance QTL on Chromosome Vu01 in Cowpea. Genes, Genomes, Genetics. V.9, p.10. 2019.

OGIBOWSKI et al., 2005. Disponível em: <http://pragawall.cenargen.embrapa.br/aiqweb/nempaper/nempdf009.pdf> Acesso em: 30 de Novembro de 2019.

OOSTENBRINK, M.; Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Mendelingen Land bouwhoge school Wageningen. V.66, p.1- 46, 1966.

ONWULIRI, A. V.; OBU, A. J.; ONWULIRI, A. V.; OBU, A.; Lipids and other constituents of *Vigna unguiculata* and *Phaseolus vulgaris* grown in northern Nigéria. Food Chemistry, Oxford, v.78, n.1, p.1-7, 2002.

PEGARD, A.; BRIZZARD, G.; FAZARI, A.; SOUCAZE, O.; ABAD, P.; DJAN-CAPAROLINO, C.; Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annuum*. Phytopathology 95, v.2, p.158-165, 2005.

PINHEIRO, J. B.; HENZ, G. P.; Manejo do nematóide-das-galhas (*Meloidogyne* ssp.) na cultura da cenoura. Comunicado Técnico ISSN 1414-9850, Embrapa Hortaliças, p.7, 2008.

PONTE, J.J.; Os nematoides do caupi e sua importância. *Nematologia Brasileira*. v.20,p.36-40, 1987.

QUIN, F.M.; Introduction. In: Sing, B.B.; MOHAN RAJ, D. R.; DASHIEL, K.E.; JACKAI, L.E.N. (Ed). *Advances in cowpea research*. Ibadan: IITA-JIRCAS, p.9-15, 1997.

RANDIG, O.; BONGIOVANNI, M.; CARNEIRO, R.M.D.G; CASTAGNONE-SERENO, P.; Genetic diversity of root-knot nematodes from Brazil and development of SCAR markers specific for the coffee-damaging species. *Genome*. v.45, p.862-870, 2002.

RIBEIRO, V.Q.; FILHO, F.R.F.; RODRIGUES, J.E.L.F.; VIEIRA, P.F.M.J.; A cultura: Aspectos Socioeconômicos. In: VALE, J.C.; et al. *Feijão – caupi do plantio à colheita*. Viçosa: Editora UFV. p.9-34, 2017.

ROBERTS, P.A.; MATTHEWS, W.C.; EHLERS, J.D.; Feijão-caupi resistente a nematoides das galhas de cobertura sobre sistemas de produção de tomate. *Agron J*. v.97, p.1626-1635, 2005.

ROBERTS, P. A.; EHLERS, J. D.; HALL, A. E.; MATTHEWS, W. C.; Characterization of new resistance to root-knot nematodes in cowpea. In: SINGH, D.R.; MOHAN RAJ, K.E.; p.207–214, 1997.

ROBERTS, P.A.; MATTHEWS, W.C.; EHLERS, J.D.; New Resistance to Virulent Root-Knot Nematodes Linked to the Rk Locus of Cowpea. *Plant and Nematode Interactions*. P.209-238, 2015.

SANTOS, J.R.P.; NDEVE, A.D.; HUYNH, B.; MATTHEWS, W.C.; ROBERTS, P.A. QTL mapping and transcriptome analysis of cowpea reveals candidate genes for root-knot nematode resistance. *PLoS ONE* 13. p1-22, 2018.

SANTANA, C.G.; ANDRADE, R.V.; SARAIVA, M.A.P.; SILVA, F.R.; BRASILEIRO, A.C.; GOSSI DE SÁ, M.F.; MEHTA, A.; Análise da expressão gênica diferencial de *Vigna unguiculata* (Feijão-caupi) infectada com *Meloidogyne incognita*. Boletim de Pesquisa 209 e Desenvolvimento ISSN. p1676 – 340, 2007.

Sarr E, Baujard P, Martiny B. Études sur les nématodes, les nématicides et le niébé (*Vigna unguiculata*) dans la zone sahélienne du Sénégal. 1. Résultats des expérimentations au champ. Revue de Nématologie. 1989a;12:171–176. [[Google Scholar](#)]

SOBRINHO, C. A.; BELMINO, C.S.; Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/feijaocaupi/arvore/CONTAG01_61_510200683537.html Acesso em: 30 de Novembro de 2018.

TIHOHOD, D.; Nematologia agrícola aplicada. Jaboticabal, FUNEP, p.372, 1993.

TUDGILL, D.L.; BLOCK, V.C.; Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. Annual Review of Phytopathology, v.39, p.53-77, 2001.