



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ANDERSON YUSEI SUZUKI FUKUJI

***Meloidogyne enterolobii* EM *Capsicum* spp:**
IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA E MANEJO
DE PRODUTOS BIOLÓGICOS

ANDERSON YUSEI SUZUKI FUKUJI

**MELOIDOGYNE ENTEROLOBII EM CAPSICUM:
IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA E MANEJO
DE PRODUTOS BIOLÓGICOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Simões Azeredo Gonçalves
Co-orientadora: Dra Andressa Cristina Zamboni Machado

Londrina
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Fukuji, Anderson Yusei Suzuki.

Meloidogyne enterolobii em *Capsicum* spp: identificação de fontes de resistência e manejo de produtos biológicos / Anderson Yusei Suzuki Fukuji. - Londrina, 2018.
65 f. : il.

Orientador: Leandro Simões Azeredo Gonçalves.

Coorientador: Andressa Cristina Zamboni Machado.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, , 2018.

Inclui bibliografia.

1. Pimentas e Pimentão - Tese. 2. Fator de reprodução - Tese. 3. Controle biológico - Tese. 4. Meloidoginose - Tese. I. Gonçalves, Leandro Simões Azeredo. II. Machado, Andressa Cristina Zamboni. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. . IV. Título.

ANDERSON YUSEI SUZUKI FUKUJI

***Meloidogyne enterolobii* EM *Capsicum* spp:**
IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA E MANEJO
DE PRODUTOS BIOLÓGICOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Leandro Simões Azeredo
Gonçalves

Co-orientadora: Dra. Andressa Cristina
Zamboni Machado
Instituto Agrônômico do Paraná – IAPAR

Dra. Renata Rodrigues Robaina
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dra. Maria Paula Barion Alves Nunes
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 27 de Fevereiro de 2018.

DEDICO

Aos meus pais, familiares e a todos os agricultores que dedicam sua vida à terra.

AGRADECIMENTOS

À minha amada Karina Kazue Nakamura que sempre esteve ao meu lado me apoiando nessa jornada.

À Universidade Estadual de Londrina pela oportunidade de realizar o curso de mestrado.

Ao programa de pós-graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador Dr^o. Leandro Simões Azeredo Gonçalves pela paciência, profissionalismo, incentivo, exigência e por ter acreditado em mim.

À minha co-orientadora Dr^a. Andressa Cristina Zamboni Machado pelo suporte prestado e exemplo de profissionalismo e por confiar em mim.

Ao Laboratório de Controle Biológico de Nematoides do IAPAR e Multiagro (Biotecnologia para Agricultura Sustentável) pela estrutura necessária para o desenvolvimento e avaliação do trabalho.

Ao Dr. André Luiz Martinez de Oliveira por disponibilizar os isolados bacterianos utilizados neste trabalho.

À todos do Laboratório de Nematologia do IAPAR que dedicaram parte do seu tempo e energia para a execução deste trabalho em especial ao Santino Aleandro da Silva que sempre prestativo e exigente contribuiu para que esse trabalho fosse desenvolvido.

À todos do Laboratório Multiagro em especial ao Odair pelo conhecimento transmitido na área de microbiologia.

À banca examinadora pela disponibilidade e melhoria do trabalho.

À todos de alguma forma contribuíram para que esse trabalho fosse realizado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Muito Obrigado!

FUKUJI, Anderson Yusei Suzuki. *Meloidogyne enterolobii* em *Capsicum* spp: identificação de fontes de resistência e manejo de produtos biológicos. 2018. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2018.

RESUMO

Apesar dos avanços tecnológicos nos sistemas de produção de *Capsicum* spp. os patógenos vêm sendo considerados um dos principais desafios para o aumento da produtividade e na qualidade dos frutos. Dentre as doenças a meloidoginose é considerada uma das mais importantes para o gênero *Capsicum* e para as oleráceas. No Brasil, alguns estudos vêm sendo realizados visando identificar fontes de resistência a esses patógenos bem como identificar potenciais antagonistas ao nematoide. Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivos identificar acessos de *Capsicum* spp. resistentes a *M. enterolobii* e avaliar a intervenção de espécies de *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. no desenvolvimento do nematoide. Nesse trabalho foram avaliados 111 acessos de *Capsicum* spp. dos bancos de germoplasma da Universidade Estadual de Londrina (UEL) e Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) quanto a resistência a *M. enterolobii*. Para a identificação de fontes de resistência foram inoculados 500 ovos e eventuais juvenis por planta e as avaliações de fator de reprodução e nematoide por grama de raiz foram realizada 60 dias após as inoculações. Para o manejo de produtos biológicos foram utilizadas 7 espécies de *Bacillus* spp. e 3 espécies de *Pseudomonas* spp. ambos na concentração de 1×10^8 unidades formadoras de colônia, além de 3 nematicidas comerciais. Para tanto a cultivar Ikeda Cascadura (*Capsicum annuum*) foi utilizada como testemunha de suscetibilidade ao *Meloidogyne enterolobii*. Ambos os experimento foram realizados em casa de vegetação pertencente ao Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) localizado em Londrina, Paraná. O delineamento adotado foi inteiramente casualizado com 10 repetições para a identificação de fontes de resistência sendo posteriormente seus dados transformados em $\log x+1$ e submetidos a análise de variância e teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Verificou-se que nenhum genótipo de *C. chinense* e *C. baccatum* obteve fator de reprodução menor que 1 para o *M. enterolobii*. Para o controle biológico foram utilizadas 8 repetições para cada tratamento. Verificou-se que não houve diferença significativa para massa fresca de raiz e massa fresca de parte aérea. Foi encontrada diferença significativa para massa seca de parte aérea, altura de planta, fator de reprodução, população final e nematoides por grama de raiz. Os isolados bacterianos T2AF (*B. amyloliquefaciens*), RE (*B. megaterium*), 20T (*Pseudomonas* spp.), RD (*B. megaterium*), AG (*B. pumilus*), RM (*B. megaterium*) e RG (*B. megaterium*) diferiram da testemunha com água e nematoide.

Palavras-chave: Pimentas e pimentão. Nematoide de galhas. Pré-melhoramento. Controle biológico. *Bacillus* spp.

FUKUJI, Anderson Yusei Suzuki. *Meloidogyne enterolobii* in *Capsicum* spp: identification of sources of resistance and management of biological products. 2018. 65 p. Dissertation (Master's Degree in Agronomy) – State University of Londrina, Londrina. 2018.

ABSTRACT

Despite the technological advances in the production systems of *Capsicum* spp. pathogens have been one of the main challenges to increase productivity and fruit quality. Among the diseases of a meloidoginose is one of the most important for the genus *Capsicum* and for the licenses. In Brazil, some studies have been carried out to identify sources of resistance to these pathogens as well as to identify potential nematode antagonists. Thus, the present work has as objectives accesses of *Capsicum* spp. resistant to *M. enterolobii* and to evaluate the intervention of *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. there is no development of nematode. For this, 111 accessions of *Capsicum* spp. of the germplasm banks of the State University of Londrina (UEL) and the State University of the Northern Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) regarding resistance to *M. enterolobii*. For identification of resistance sources with inoculated 500 eggs and eventual juveniles per plant and reproduction factor, the number of nematodes per gram of root were evaluated 60 days after inoculation. For the control biological 7 species of *Bacillus* spp. and 3 species of *Pseudomonas* spp. besides 3 commercial nematicides. For this purpose a cultivar Ikeda Cascadura (*Capsicum annuum*) was used as a control of susceptibility to *Meloidogyne enterolobii*. Both experiments were carried out in a greenhouse at the Agronomic Institute of Paraná (IAPAR) located in Londrina, Paraná. The completely randomized design with 10 replicates for the identification of resistance sources and their data transformed into $\log x + 1$ and subjected to analysis of variance and Scott-Knott's test at 5% probability. It was verified that no genotype of *C. chinense* and *C. baccatum* obtained a reproduction factor less than 1 for *M. enterolobii*. For biological control with 8 replicates for treatment. It has been found not to be a significant difference for fresh root mass and fresh shoot mass. There was a significant difference for dry mass, reproduction factor, final population and nematodes per gram of root were found. Bacterial isolates T2AF (*B. amyloliquefacienes*), RE (*B. megaterium*), 20T (*Pseudomonas* spp.), RD (*B. megaterium*), AG (*B. pumilus*), RM (*B. megaterium*) and RG (*B. megaterium*) differed from the control with water and nematoid.

Key words: Chilli peppers. Root-knot nematode. Pre-breeding. Biological control. *Bacillus* spp.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Fator de reprodução (FR) e nematoides por grama de raiz (NGR) em acessos de <i>Capsicum chinense</i> aos 60 dias após a inoculação com 500 ovos de <i>M. Enterolobii</i>	38
Tabela 2 -	Fator de reprodução (FR) e nematoides por grama de raiz (NGR) de <i>Meloidogyne enterolobii</i> em acessos de <i>Capsicum baccatum</i> , aos 60 dias após a inoculação de 500 ovos.....	41
Tabela 3 -	Análise de variância para altura de planta (ALT), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa fresca de raiz (MFR) em <i>C. annuum</i> inoculados com isolados bacterianos e 500 ovos e eventuais juvenis de <i>M. Enterolobii</i>	43
Tabela 4 -	Análise de variância para população final (PF), fator de reprodução (FR) e nematoides por grama de raiz (NGR) em <i>C. annuum</i> inoculados com isolados bacterianos e 500 ovos e eventuais juvenis de <i>M. Enterolobii</i>	43
Tabela 5 -	Fator de reprodução (FR), número de nematoides por grama de raiz (NGR), população final e porcentagem de redução no fator de reprodução (RFR) de <i>Meloidogyne enterolobii</i> , massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa fresca de raiz (MFR), altura de planta (ALT) de acessos de <i>Capsicum annuum</i>	44

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	<i>CAPSICUM</i> SPP.: ASPECTOS BOTÂNICOS E ECONÔMICOS.....	17
2.2	PRINCIPAIS DOENÇAS	19
2.3	GÊNERO <i>MELOIDOGYNE</i>	20
2.3.1	Ciclo de Vida	21
2.4	<i>MELOIDOGYNE ENTEROLOBII</i>	23
2.5	<i>MELOIDOGYNE ENTEROLOBII</i> EM <i>CAPSICUM</i> SPP.....	24
2.6	RESISTÊNCIA A <i>MELOIDOGYNE</i> SPP. EM <i>CAPSICUM</i> SPP.....	25
2.7	CONTROLE BIOLÓGICO.....	26
2.7.1	Bactérias no Controle de Nematoides	27
3	ARTIGO A	29
3.1	RESUMO	29
3.2	ABSTRACT.....	30
3.3	INTRODUÇÃO	30
3.4	MATERIAL E MÉTODOS	32
3.4.1	Identificação de Fontes de Resistência a <i>Meloidogyne enterolobii</i>	32
3.4.2	CONTROLE BIOLÓGICO.....	34
3.4.3	Análise dos Dados	36
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
3.5.1	Experimento 1. <i>Capsicum chinense</i>	36
3.5.2	Experimento 2. <i>Capsicum baccatum</i>	40
3.5.3	Experimento 3. Controle Biológico	43
3.6	CONCLUSÕES	49
	REFERÊNCIAS	50
	APÊNDICES	62
	APÊNDICE A – Genes para a resistência do gênero <i>meloidogyne</i> spp. Já identificados e seus controles.....	63

APÊNDICE B – Identificação de 111 acessos de <i>capsicum</i> spp. Do banco de germoplasma da Universidade Estadual de Londrina.	64
APÊNDICE C – Descrição dos tratamentos utilizados para o experimento de controle biológico em <i>Capsicum annuum</i>	67
APÊNDICE D – Fotos dos acessos de <i>Capsicum baccatum</i> pertencentes ao bando de germoplasma da Universidade Estadual de Londrina.	68
APÊNDICE E – Fotos dos acessos de <i>capsicum chinense</i> pertencentes ao banco de germoplasma da Universidade Estadual de Londrina.	69

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Capsicum*, no qual incluem-se as pimentas e pimentões, possui grande relevância econômica, sendo considerado um dos principais grupos de olerícolas no mundo. Esse gênero compreende 38 espécies, entre as quais apenas cinco são domesticadas: *C. annuum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L., *C. baccatum* L. e *C. pubescens* Ruiz et Pavon (DEWITT e BOSLAND, 2009). No Brasil, esse gênero tem um importante papel socioeconômico, biológico e cultural devido à ampla forma de utilização dos frutos na culinária, na indústria e como ornamental (SUDRÉ et al., 2010).

Apesar dos avanços tecnológicos nos sistemas de produção do gênero *Capsicum*, os patógenos são considerados um dos principais entraves para aumento da produtividade e na qualidade dos frutos. Entre as várias doenças relatadas no Brasil, destacam-se a antracnose (*Colletotrichum* spp.), a murcha vascular (*Phytophthora capsici*), a mancha-bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*), as viroses (principalmente, *Potato virus Y* – PVY e *Pepper yellow mosaic virus* – PepYMV) e os nematoides de galhas (*Meloidogyne* spp.) (BENTO et al., 2013).

Os nematoides de galhas são considerados um fator preocupante no cultivo de *Capsicum*, ocasionado sérios prejuízos econômicos (PINHEIRO et al., 2014). As espécies de maior importância econômica incluem *M. incognita* (Kofoid e White), *M. javanica* (Treub) Chitwood e recentemente *M. enterolobii* (sin. *M. mayaguensis*) Yang & Eisenback (CARNEIRO et al., 2006).

Meloidogyne enterolobii tem demonstrado elevada importância nas áreas de cultivo de *Capsicum* spp., pois as fontes de resistência efetivas contra outros nematoides (como, por exemplo, genótipos portadores dos genes *Me1*, *Me3* e *Me7*) são ineficazes no seu controle, e também pela sua elevada virulência, provocando menor desenvolvimento e deformações no sistema radicular, conseqüentemente, redução na qualidade e quantidade de frutos (CARNEIRO et al., 2006; BARBARY et al., 2015; PINHEIRO et al., 2015). Além disso, essa espécie de nematoide possui vários hospedeiros, incluindo outras hortaliças, fruteiras, essências florestais, ornamentais e plantas daninhas, dificultando assim o seu controle (MELO et al., 2011).

Para o desenvolvimento de programas de melhoramento, fundamental a busca por genótipos resistentes, pois a resistência genética é a forma mais eficiente no controle de doenças, sendo uma das prioridades em relação à

resistência a nematoides (GONÇALVES et al., 2014), além de ser economicamente viável e ambientalmente segura.

Além da identificação de fontes de resistência, outras estratégias precisam ser adotadas, como rotação ou sucessão de culturas com espécies não hospedeiras, tratamento químico e o controle biológico (COLLANGE et al., 2011; CORTE et al., 2014). O manejo químico de nematoides pode ser realizado com o uso de nematicidas no tratamento de sementes ou em aplicação no sulco de semeadura. Contudo, o uso de nematicidas químicos tem sido limitado devido à alta toxicidade, risco ambiental, alto custo, pouca disponibilidade em alguns países e baixa eficácia ao longo do tempo (DONG e ZHANG, 2006).

Na busca por métodos eficientes e ambientalmente seguros de manejo de nematoides, pesquisas vêm sendo desenvolvidas com o objetivo de explorar o potencial de inimigos naturais dos nematoides em programas de controle biológico (COLLANGE et al., 2011; VAZ et al., 2011). O controle biológico é a redução da população de determinado patógeno por outro organismo vivo, geralmente um microrganismo, por meio de parasitismo, predação, competição ou antibiose (BETTIOL et al., 1991). Esses organismos ocorrem naturalmente na área infestada pelos fitonematoides ou também podem ser introduzidos pelo homem ou maquinários (VENZON et al., 2005).

Existem inúmeros organismos considerados inimigos naturais dos fitonematoides, como, por exemplo, fungos, bactérias, nematoides predadores, protozoários, ácaros, entre outros (KERRY et al., 1990). Entre esses, as bactérias que habitam a rizosfera apresentam grande potencial de controle de fitonematoides. Estas podem atuar como indutores de resistência da planta, produzir enzimas e metabólitos tóxicos, além de alterar os exsudatos radiculares, inibindo a eclosão de ovos e/ou reduzindo a atratividade dos nematoides para as raízes (LUDWIG et al., 2013).

Entre as bactérias, destacam-se os gêneros *Pseudomonas*, *Pasteuria* e *Bacillus*, sendo que algumas espécies do gênero *Pseudomonas* são capazes de diminuir a massa gelatinosa de ovos e diminuir a eclosão de juvenis (TAVAKOL-NORABADI et al., 2013). Em relação ao gênero *Bacillus*, o mesmo tem a capacidade de destruir a cutícula dos nematoides, pela ação das proteases, favorecendo sua morte (NIU et al., 2006). A facilidade de produção em grande quantidade e a produção de endósporos com resistência ao calor torna a produção de bionematicidas com elevada ação antagônica viável economicamente (CHEN; DICKSON, 2004). Com

base no exposto, o presente trabalho teve como objetivos: *i)* identificar possíveis fontes de resistência em *Capsicum* spp. a *M. enterolobii*, e *ii)* avaliar a potencialidade de bactérias para controle de *M. enterolobii*, em condições de casa de vegetação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *CAPSICUM* SPP.: ASPECTOS BOTÂNICOS E ECONÔMICOS

No Brasil, a média produtiva anual é de aproximadamente 300 mil toneladas, distribuídas em 15 mil hectares (VILELLA et al., 2014). No entanto, esses dados estão subestimados em virtude da ausência de uma estatística confiável e de informações sistematizadas. Além do valor econômico, os frutos de pimenta são utilizados no preparo de pratos típicos da região da mata atlântica, abrangendo os pimentões, pimentas com alta ardência, pimentas-doces e pimentas ornamentais (SUDRÉ et al., 2010).

As plantas do gênero *Capsicum* pertencem à Divisão Spermatophyta, Filo Angiospermae, Classe Dicotyledoneae, Ramo Malvales, Ordem Solanales e Família Solanaceae (ANDREWS, 1995). É composto por pelo menos 35 espécies, sendo consideradas cinco espécies domesticadas: *C. annuum* L., *C. baccatum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L. e *C. pubescens* Ruiz e Pav. (BIANCHETTI, 1996; MOSCONE et al., 2007).

As espécies do gênero *Capsicum* possuem caule semi-lenhoso, que pode ultrapassar 1,0m de altura. Apesar de perenes, são cultivadas como plantas herbáceas anuais e possuem grande variabilidade quanto às suas principais características morfológicas, como formato, tamanho, cor e posição de flores e frutos, entre outras (FILGUEIRA, 2008). As flores típicas são hermafroditas, preferencialmente autógamas, o que facilita a sua reprodução, podendo ocorrer polinização por insetos e abelhas, favorecendo cruzamentos entre as espécies do gênero (FILGUEIRA, 2008).

O fruto é uma baga oca com diferentes formatos, cores, tamanhos e pungências. Os frutos vermelhos são predominantes, no entanto, inúmeras outras cores podem ser observadas. Os formatos de frutos encontrados são arredondados, triangulares, alongados, quadrados, campanulados e retangulares (CARVALHO; BIANCHETTI, 2004).

A espécie *C. baccatum* foi primeiramente descrita por Linnaeus (1753) e é mais conhecida como pimenta aji, sendo amplamente distribuída na América do Sul. Os centros de origem mais prováveis são a Bolívia e o Sul do Peru, sendo primeiramente domesticada no Peru, há cerca de 4500 anos atrás (D'ARCY e

ESHBAUGH, 1974). Essa espécie é dividida em três grupos mais importantes, os dois primeiros caracterizados pelas variedades silvestres (*C. baccatum* var. *baccatum* e *C. baccatum* var. *praetermissum*) e a variedade domesticada *C. baccatum* var. *pendulum*, sendo a espécie conhecida popularmente por pimenta aji, cambuci, chifre de veado, chapéu de bispo e dedo-de-moça (ESHBAUGH, 1970).

A espécie *C. annuum* L. é uma das espécies mais difundidas e populares do grupo das hortaliças, apresentando grande variabilidade e sendo a mais cultivada dentro do gênero *Capsicum* (CARVALHO; BIANCHETTI, 2008). Essa espécie compreende as pimentas e os pimentões, sendo amplamente explorada por pequenos e médios horticultores (ALBUQUERQUE et al., 2010). Esta espécie é representada principalmente pelos tipos jalapeño, serrano, cereja, entre outras, além de variedades ornamentais (BÜTTOW, 2010).

A espécie *C. chinense* tem como centro de domesticação a região Amazônica, sendo amplamente cultivada na região tropical (CARVALHO; BIANCHETTI, 2008; MOSES; UMAHARAN, 2012). É mais conhecida popularmente como pimenta de cheiro, habanero, biquinho, pimenta de Bode, cumari do pará e murupi (REIFSCHNEIDER, 2000).

A espécie *C. frutescens* L. é mais conhecida por pimenta malagueta e tabasco, sendo caracterizada por, geralmente, possuir elevada pungência, que realça o sabor dos alimentos (YAMAMOTO e NOWATA, 2005), tornando-a muito utilizada na culinária tanto *in natura* como processada. Essa espécie é muito próxima de *C. chinense*, visto que ambas já foram consideradas como uma única espécie (REIFSCHNEIDER, 2000). As plantas da espécie *C. frutescens* estão distribuídas desde as terras baixas do sudeste brasileiro até a América Central e as Índias Ocidentais (CARVALHO e BIANCHETTI, 2008), no Brasil é encontrada preferencialmente nas regiões norte, centro-oeste e nordeste.

Capsicum pubescens é uma espécie típica de terras altas, porém pode ocorrer em altitudes mais baixas, sendo a única espécie que não se encontra representada no Brasil (RIBEIRO et al., 2008a). Possui apenas uma flor em cada nó, de coloração roxa podendo ter áreas brancas, anteras roxas, frutos com formato de maçã ou pera e sementes negras (BOSLAND, 1996). O centro primário de diversidade da espécie é a Bolívia (REIFSCHNEIDER, 2000), sendo mais conhecida como “rocoto” ou “locoto” (BOSLAND, 1996).

Os maiores produtores de pimentas *Capsicum in natura* no mundo são a China (16 milhões de toneladas/ano), o México (2,7 milhões de toneladas/ano) e a Turquia (2,1 milhões de toneladas/ano). Para pimentas desidratadas, os países que se destacam são a Índia (1,4 milhões de toneladas/ano), a Tailândia (321 mil toneladas/ano) e a China (306 mil toneladas/ano) (FAOSTAT, 2017). No Brasil, as regiões que possuem maior produção são sudeste e centro-oeste com destaque para o estado de São Paulo que obteve uma produtividade média de 34,71 toneladas por hectare na safra de 2015. (IEA, 2016).

2.2 PRINCIPAIS DOENÇAS

As doenças de maior relevância para *Capsicum* spp. no Brasil são: antracnose (*Colletotrichum* spp.), murcha vascular (*Phytophthora capsici*), mancha bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*), viroses (principalmente, *Potato virus Y* – PVY e *Pepper yellow mosaic virus* – PepYMV) e os nematoides de galhas (*Meloidogyne* spp.) (BENTO et al., 2013).

A antracnose é considerada uma das principais doenças fúngicas do gênero *Capsicum*, causando extensivas perdas pré e pós-colheita, principalmente nos períodos quentes e úmidos (BABU et al., 2011). Os sintomas típicos nos frutos são lesões deprimidas de formato circular ou angular, com anéis concêntricos de acérvulos, que são muitas vezes úmidos, e com produção de massas de conídios rosas ou alaranjadas (THAN et al., 2008).

O PepYMV (causador do mosaico amarelo do pimentão) transmitido principalmente por afídeos vem sendo considerado prioridade nos programas de melhoramento de *Capsicum* no Brasil em virtude, principalmente, da sua ocorrência natural na maioria das regiões produtoras, causando grandes perdas na produção (REZENDE, 2015). Os principais sintomas ocasionados pelo PepYMV que é transmitido por afídeos, incluem encrespamento nas folhas, desenvolvimento de mosaico com tonalidade verde amarelada, redução geral do tamanho da planta e dos frutos e deformação dos frutos (BENTO et al., 2013).

Os nematoides de galhas (*Meloidogyne* spp.) são também considerado um fator preocupante no cultivo de *Capsicum*, ocasionado sérios prejuízos econômicos principalmente para as espécies *M. incognita* (Kofoid e White),

M. javanica (Treub) Chitwood e *M. enterolobii* (sin. *M. mayaguensis*) Yang e Eisenback (PINHEIRO et al., 2014).

Dentre as espécies de *Meloidogyne* spp., *M. enterolobii* tem demonstrado elevada importância no cultivo de *Capsicum* spp., pois as fontes de resistência efetivas contra outros nematoides, como *M. incognita* e *M. javanica*, são ineficientes no seu controle (PINHEIRO et al., 2014). Além disso, *M. enterolobii* possui elevada virulência, comparada com outras espécies, provocando deformações no sistema radicular, dificultando a absorção de água e íons que, por consequência, acarreta na diminuição da qualidade e quantidade de frutos (CARNEIRO et al., 2006; BARBARY et al., 2015; PINHEIRO et al., 2015). *Meloidogyne enterolobii* possui vários hospedeiros, incluindo outras hortaliças, fruteiras, essências florestais, ornamentais e plantas daninhas, dificultando, assim, o seu controle (MELO et al., 2011).

2.3 GÊNERO *MELOIDOGYNE*

Meloidogyne é uma palavra de origem grega que significa fêmea em forma de pera e os nematoides desse gênero são mais conhecidos como nematoides das galhas radiculares. Os nematoides formadores de galhas pertencem ao reino Animal, filo Nematoda, classe Chromadorea, subclasse Chromadoria, ordem Rhabditida, família Meloidogynidae, subfamília Meloidogyninae e gênero *Meloidogyne* conforme a classificação proposta por De Ley e Blaxter (2002).

O primeiro relato de um nematoide das galhas foi feito em 1855, por Berkeley, observando galhas radiculares em pepino (MOENS et al., 2009). São conhecidas mais de 100 espécies de *Meloidogyne*, sendo que o gênero possui um alto grau de polifagia, causando grandes prejuízos em mais de 2000 espécies vegetais (HUNT e HADDOO, 2009). As perdas causadas pelo gênero são acentuadas em frutícolas, ornamentais e olerícolas (BITENCOURT; SILVA, 2010), além do parasitismo em diversas plantas daninhas (RICH et al., 2009).

A maior parte das pesquisas se concentra nas espécies com maior ocorrência no mundo e no Brasil, sendo estas *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949, *M. hapla* Chitwood, 1949, *M. incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood, 1949 e *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 (PINHEIRO; AMARO; PEREIRA, 2010). No entanto, espécies como *M. enterolobii* Yang e Eisenback, 1983 (Sin.: *M. mayaguensis*) (RAMMAH; HIRSCHMANN, 1988), *M. exigua* Goeldi, 1892, *M. fallax* Karssen, 1996,

M. chitwoodi Golden et al., 1982 e *M. paranaensis* Santos e Almeida, 1996, anteriormente de menor importância, vêm acarretando sérios prejuízos em diversas culturas, estando disseminados em várias regiões brasileiras (MACHADO, 2014).

2.3.1 Ciclo de Vida

O ciclo de vida de *Meloidogyne* spp. começa com o ovo, em cujo interior ocorrem várias fases durante o desenvolvimento embrionário, ocorrendo por embriogênese, a formação do juvenil de primeiro estágio, ou J1. Após a primeira ecdise, o juvenil atinge o segundo estágio (J2) ainda dentro do ovo.

O J2 perfura o ovo com seu estilete, sendo este o estágio de desenvolvimento infectivo do nematoide, o qual, em condições favoráveis, move-se por meio do filme de água que reveste as partículas de solo, seguindo um gradiente de concentração de exsudatos radiculares e, quando encontra a raiz, penetra-a na região da zona de alongamento celular, logo atrás da coifa, encontrando seu hospedeiro (SALGADO; REZENDE, 2010).

Após a penetração do nematoide, o J2 injeta secreções esofagianas através do estilete nas células da planta, que vão alterá-las morfológica e fisiologicamente, estimulando a formação de células hipertrofiadas sendo ao redor do corpo do nematoide, que serão utilizadas na sua alimentação, denominadas células gigantes (HUSSEY; GRUNDLER, 1998). Esse processo causa a obstrução física dos vasos condutores de água e minerais (FREITAS; OLIVEIRA; FERRAZ, 2001).

Uma vez estabelecido o seu sítio de alimentação, o juvenil de segundo estágio gradualmente torna-se mais robusto e com corpo salsichoide, perdendo sua mobilidade e tornando-se sedentário, sofrendo sua segunda ecdise, transformando-se em juvenil de terceiro estágio (J3), que, em seguida, dá origem ao juvenil de quarto estágio (J4) ou pré-adulto. Tanto o J3 como o J4 não possuem estilete e o esôfago é praticamente degenerado, sendo incapazes de alimentar-se. Ocorre ainda a quarta e última ecdise, na qual o adulto (macho ou fêmea) é formado, com estilete e esôfago regenerados (FERRAZ; MONTEIRO, 2011). O macho adquire a forma vermiforme, rompe a cutícula que o envolvia no quarto estágio, abandona a raiz e não se alimenta.

Na maioria das espécies de *Meloidogyne*, os machos não têm papel na reprodução (TIHOHOD, 1993; FERRAZ et al., 2010). Em condições normais, a quase totalidade dos adultos é formada por fêmeas. Entretanto, se ocorrer algum

estresse no meio ambiente, como deficiência nutricional, temperaturas extremas e excesso populacional, os juvenis, que resultariam em fêmeas, sofrem um mecanismo de sobrevivência denominado reversão sexual, formando machos (CAMPOS, 1999). Nesse caso, um número menor de ovos será produzido e o parasitismo sobre a planta infectada será mais brando, garantindo a sobrevivência das fêmeas já formadas e aumentando a variabilidade genética da população devido a inserção de machos.

A fêmea, por sua vez, inicia seu desenvolvimento, tornando-se obesa, até ficar quase esférica, e apresenta a coloração branco/leitosa. Os órgãos reprodutivos amadurecem e esta deposita todos os ovos em um único local da raiz, envoltos por matrizes gelatinosas, originando um típico aglomerado ou massa de ovos (MONTEIRO, 2011). Os ovos mantêm-se unidos devido à presença de substâncias gelatinosas secretadas pelas glândulas retais da fêmea, que fluem através do ânus durante o período de oviposição, protegendo-os da dessecação e dando proteção antimicrobiana, permitindo a viabilidade dos ovos no solo por longos períodos (ORION; KRITZMAN, 1991). As massas de ovos são localizadas internamente nas raízes, no parênquima cortical, ou externamente, sobre a superfície das mesmas, podendo conter até 400 ovos (MONTEIRO, 2011), dependendo do hospedeiro e das condições ambientais. Normalmente, o ciclo completo de vida das espécies de *Meloidogyne* completa-se no período de 21 a 28 dias, com temperatura oscilando entre 25 a 30 °C (MONTEIRO, 2011), mas pode variar dependendo da espécie vegetal infestada e fatores ambientais, como temperatura e umidade (TIHOHOD, 1993).

Dentre os sintomas apresentados pelo parasitismo do nematoide, podem ocorrer necrose, deformação e subdesenvolvimento radicular, redução na absorção de água e íons que, conseqüentemente, provoca um menor desenvolvimento da parte aérea. Além disso, também pode ocorrer murcha, clorose generalizada e redução na produtividade, podendo levar a planta à morte (TIHOHOD, 2000). A infecção de *Meloidogyne* no sistema radicular também contribui para a entrada de outros fitopatógenos como fungos e bactérias (MARINO et al., 2012).

2.4 *MELOIDOGYNE ENTEROLOBII*

Meloidogyne enterolobii e *M. mayaguensis* pertenciam a espécies diferentes, porém, após estudos feitos com base nos dados morfométricos e morfológicos, como a cauda de juvenis, a configuração perineal das fêmeas maduras

e o formato da região labial dos machos, na reprodução, no número de cromossomos, nos perfis de EST (*Expressed Sequence Tags*) e MDH (Malato desidrogenase), além de semelhanças na gama de hospedeiros (XU et al., 2004) resultaram na sinonimização dessas espécies.

Esta espécie foi primeiramente descrita na ilha de Hainan, na China, na leguminosa tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*). É encontrada em vários países africanos (WILLERS, 1997), nas Américas (CARNEIRO, 2003), na França e Suíça (OLIVEIRA et al., 2010), além do Vietnã (IWAHORI et al., 2009). A espécie é considerada de distribuição cosmopolita, tendo maior incidência em zonas climáticas tropicais e subtropicais, onde o verão é mais longo do que o inverno.

Meloidogyne enterolobii é considerado um patógeno de importância econômica crescente na agricultura brasileira, sendo relatado pela primeira vez em Petrolina (PE), Curaçá e Maniçoba (BA), causando prejuízos em pomares de goiaba (CARNEIRO et al., 2001). Esse patógeno é um dos principais na cultura da goiabeira (BLOK e POWERS, 2009), podendo, em áreas altamente infestadas, tornar inviável sua produção (CARNEIRO et al., 2007).

Esse nematoide já foi relatado associado às culturas de acerola, mamão, alface, pepino, pimentão, tomate-cereja, soja, abóbora e fumo (LIMA et al., 2003; SOUZA et al., 2006; ALMEIDA et al., 2008; PAES et al., 2012). É considerada espécie altamente agressiva dentro do gênero *Meloidogyne* e apresenta elevado índice de infecção em raízes de plantas hospedeiras como o fedegoso (*Senna* spp.), seralha (*Emilia sonchifolia*), beldroega pequena (*Chamaesyce prostrata*), urtiga (*Cnidocolus urens*) e maracujá do mato (*Passiflora mucronata*), tornando mais difícil o controle da sua disseminação e a diminuição da população (LIMA et al. 2003). Além disso, induz a formação de galhas mais severas do que outras espécies do gênero *Meloidogyne* (CASTAGNONE-SERENO, 2012) e ainda possuem a capacidade de parasitar plantas resistentes a outras espécies de *Meloidogyne*, o que torna esse nematoide extremamente importante para a agricultura nacional (BITENCOURT; SILVA, 2010).

Podem ser citadas como medidas de controle para as espécies de *Meloidogyne* o revolvimento do solo, eliminação dos resíduos da cultura anterior para diminuição da população, controle de plantas daninhas, introdução de microrganismos antagonistas, solarização, alqueive úmido, controle químico com nematicidas e a utilização de cultivares resistentes (COYNE et al., 2009; COLLANGE et al., 2011).

Todos esses métodos para o controle do nematoide visam a redução da densidade populacional, com o objetivo de diminuir as perdas pelo mesmo. A resistência genética tem sido o método mais eficiente e econômico no controle do nematoide das galhas. No entanto, a maioria das cultivares comerciais consideradas resistentes a outras espécies de *Meloidogyne* são suscetíveis a *M. enterolobii* (ROSA et al., 2015). Em estudo de Cantu et al. (2009) de resistência a *M. enterolobii* em cultivares de tomate resistentes a *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*, os autores verificaram reação de suscetibilidade nas cultivares avaliadas, sendo que essas possuem o gene *Mi*, que condiciona a resistência a *M. incognita*. Em trabalhos de feijão, também foi verificado o parasitismo de *M. enterolobii* em cultivares consideradas resistentes a outras espécies de nematoides das galhas (GUIMARÃES et al., 2003).

As pesquisas com *M. enterolobii* são recentes, devido ao fato de esse nematoide ser considerado um patógeno emergente, mesmo assim alguns pesquisadores já encontraram fontes de resistência em genótipos de alface, *Capsicum* spp., batata-doce, feijão e melão, além de outras culturas, possibilitando a utilização dessas fontes em programas de melhoramento (OLIVEIRA, 2007; MELO et al., 2011)

2.5 MELOIDOGYNE ENTEROLOBII EM CAPSICUM SPP.

No mundo são calculadas perdas anuais de aproximadamente 100 bilhões de dólares, causadas pelos nematoides das galhas (WEI et al., 2014). Estima-se que as perdas causadas por fitonematoides em oleráceas são de 12,3% nos países desenvolvidos e 14,6% nos países em desenvolvimento (ANWAR; MCKENRY, 2012).

A adaptação aos sistemas modernos de produção propiciou, dentre outros, o cultivo em ambiente protegido, que permite a produção de pimentão durante todo o ano (OLIVEIRA et al., 2009). Porém, o cultivo intensivo tem acarretado maior ocorrência de doenças devido à falta de rotação de culturas. Os patógenos são favorecidos e estabelecem-se na área após cultivos sucessivos de materiais suscetíveis, como é o caso dos nematoides das galhas (PINHEIRO et al., 2014).

A dificuldade de manejo no mesmo ambiente, a produção intensiva, o baixo nível de prevenção de doenças, aliados à não realização de rotação de culturas,

têm contribuído para a disseminação e perpetuação de nematoides nas áreas de cultivo, ocasionando perdas econômicas significativas na produção. Dessa forma, o uso de genótipos resistentes tornou-se relevante nas áreas cultivadas com pimentão (PINHEIRO et al., 2014).

2.6 RESISTÊNCIA A *MELOIDOGYNE* SPP. EM *CAPSICUM* SPP.

A resistência genética das plantas refere-se à habilidade evidenciada na supressão do desenvolvimento dos nematoides, possibilitando redução da população (FERREIRA et al., 2010). É classificada de acordo com o número de genes que controlam a característica, podendo ser monogênica, oligogênica ou poligênica, o que interfere na definição de estratégias para incorporá-las em cultivares comerciais. Para o gênero *Meloidogyne* já foram identificados 9 genes para resistência em *Capsicum* spp. sendo os genes *N*, *Me1*, *Me2*, *Me3*, *Me4*, *Me5*, *Me6*, *Me7*, *Mech1* e *Mech2* (Apêndice A) (Hare 1957; Hendy et al., 1985; Djian-Caporalino et al., 1999; Djian-Caporalino et al., 2001).

Poucos trabalhos foram realizados visando a identificação de resistência do gênero *Capsicum* spp. à *M. enterolobii*, entretanto em trabalho de Oliveira (2007) foi encontrado um genótipo de *Capsicum frutescens* resistente. Em trabalho de Gonçalves (2014) também foi encontrado um genótipo resistente, porém de *Capsicum chinense*. Cantu et al., (2009) encontrou genótipos de tomate suscetíveis a *M. enterolobii*, mesmo sendo resistentes a *M. incognita* e *M. javanica*. Resultados similares foram encontrados em trabalho de Pinheiro et al., (2014) com *Capsicum* spp. onde encontrou acessos resistentes a *M. javanica* e *M. incognita*, porém suscetíveis a *M. enterolobii*. Já em estudo de Diniz et al., (2016) encontrou 3 genótipos resistentes de melão ao *M. enterolobii*. Isso demonstra a importância da busca por fontes de resistência a *M. enterolobii* de extrema importância em programas de melhoramento genético.

Em relação a herança da resistência em trabalho de Souza Sobrinho (1998) com *C. annuum* e *M. incognita* concluiu que a herança da resistência é monogênica com efeitos predominantes de aditividade. Em estudo de Sánchez-Solana et al. (2017) verificou-se que para *M. incognita*, houve eficácia da resistência quantitativa quando combinados os genes *Me1* e *Me3*, em condições de casa de vegetação sendo que o gene *Me1* mostrou-se uma fonte mais durável e estável que

o *Me3* para a resistência a *M. incognita*. Para Barbary et al. (2016), três QTL's (*Quantitative Trait Loci*) fortemente ligados no cromossomo P1 e um QTL no cromossomo P9 de *Capsicum* spp. são de grande importância para proporcionar maior eficácia e durabilidade na resistência aos nematoides de galhas. Em estudo de Djian-Caporalino (2007) os genes *Me1*, *Me3*, *Me4*, *Me7*, *Mech1* e *Mech2* estão localizados em uma região de 28 cM no cromossomo P9 de *C. annum*. Para Celik et al. (2016), o gene *N* que confere resistência aos nematoides de galhas está fortemente ligado ao cromossomo P9 de pimenta evidenciando a importância de mais estudos nesse cromossomo.

2.7 CONTROLE BIOLÓGICO

Além da resistência genética, o uso de agroquímicos para controle de doenças, pragas e plantas daninhas surge como opção, sendo caracterizado pela simplicidade e previsibilidade. Porém, seu uso intensivo acarreta problemas de desequilíbrio ambiental, como contaminação do solo, água, animais, intoxicação dos agricultores, resistência de pragas, plantas daninhas e doenças (MORANDI; BETTIOL, 2009). É crescente a necessidade da implantação de sistemas mais sustentáveis de manejo integrado, no qual tem-se a preocupação com a manutenção da biodiversidade e o equilíbrio ecológico do solo e água (COYNE et al., 2009). Para tanto, o controle biológico é uma ferramenta indispensável para a produção de alimentos livres de resíduos agroquímicos (LOPES, 2009).

O controle biológico é definido como sendo a diminuição da população de um organismo alvo por outro organismo vivo (STIRLING, 1991). Pode ocorrer de forma natural, por meio do equilíbrio biológico do solo, ou artificialmente, por meio da inoculação de populações com atividade antagonista ao nematoide (JATALA, 1986; STIRLING, 1991; FERRAZ; SANTOS, 1995).

Dentre os diversos inimigos naturais dos nematoides comumente encontrados nos solos, os que apresentam maior expressão como agentes biológicos são as bactérias e os fungos (FERRAZ e SANTOS, 1995). As bactérias mais usadas no controle biológico são *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *B. thuringiensis*, *Paenibacillus* spp. e *Pseudomonas* spp.. Já em relação ao fungos, os mais utilizados na agricultura são *Pochonia chlamydosporia*

(VIGGIANO et al., 2014), *Trichoderma harzianum* (LORITO et al., 2015) e *Paecilomyces lilacinus*.

2.7.1 Bactérias no Controle de Nematoides

As rizobactérias controlam os fitonematoides por produzirem compostos tóxicos, por alterarem os exsudatos radiculares, ou por induzirem resistência em plantas (CHEN; DICKSON, 2004). Podem atuar diretamente sobre os fitonematóides, por meio de toxinas e antibióticos que inibem a eclosão e a mobilidade dos juvenis de segundo estágio (J2) e reduzir a invasão dos fitonematóides nas raízes das plantas. As rizobacterias podem desencadear reações na planta que impedem a formação de células gigantes ou acarretar modificações dos exsudatos radiculares, fazendo com que não sejam reconhecidos pelos fitonematoides e deixem de estimular a eclosão, o movimento e a penetração nas raízes (OOSTENDORP; SIKORA, 1990).

Existem ainda relatos de que bactérias desse gênero atuam no crescimento da planta, a partir do efeito inibidor contra patógenos, produzindo substâncias biologicamente ativas ou transformando compostos minerais e orgânicos indisponíveis em formas disponíveis para a planta (BROADBENT et al., 1977). Além disso, entende-se que há um incremento da produção a partir do uso dessa bactéria (MERRIMAN et al., 1974), tornando a utilização de rizobactérias uma importante ferramenta para o controle biológico dos nematoides das galhas.

Dentre os inimigos naturais destacam-se o gênero *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. sendo que em trabalho com *Bacillus thuringiensis* foram identificados genes *cry* que apresentaram atividade antagonista aos nematoides do gênero *Meloidogyne* spp. (JOUZANI et al. 2008). Já em estudo de Li et al. (2012) foi encontrado um isolado de *Bacillus thuringiensis* dos 438 *Bacillus* spp testados que obteve 100% de mortalidade para o *Meloidogyne incognita* demonstrando o potencial no controle de nematoides. Outra espécie importante é *Bacillus subtilis* que produz proteases, lipases, celulasas e β -glucanases (CAZORLA et al. 2007), sendo que em trabalho de Xia et al. (2011) com *M. javanica* foi identificado um isolado de *B. subtilis* obtendo mortalidade de 100% nos nematoides. Entretanto verificou-se que além de controlar os nematoides, a inserção do *B. subtilis* aumentou a massa da parte aérea em tomateiro (ARAÚJO e MARCHESI 2009).

Já outra espécie, *B. pumilus* pertencente ao grupo de *B. subtilis*, é encontrada como ingrediente ativo de defensivos agrícolas vendidos atualmente assim como o *B. amyloliquefaciens*. Outra espécie é o *Bacillus megaterium* que possui a capacidade de aumentar a disponibilidade de fósforo no solo para a planta (HUANG et al. 2010). Em trabalho de Radwan et al. (2012) com *M. incognita* em tomate verificou-se que o *B. megaterium* reduziu em mais de 90% a ocorrência do nematoide nas raízes.

Outro gênero importante é a *Pseudomonas* spp. que produzem substâncias que estimulam o crescimento das plantas e que apresentam bons resultados para o controle biológico de nematoides. Em trabalho de Siddiqui et al. (2000) a população de *M. javanica* foi reduzida pela inserção de *P. aeruginosa* em plantas de tomate.

3 ARTIGO A

***Meloidogyne enterolobii* EM *Capsicum* spp.: IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA E MANEJO DE PRODUTOS BIOLÓGICOS**

3.1 RESUMO

Dentre os patógenos que causam perdas na produção de *Capsicum* spp. destaca-se a meloidogynose provocadas pelo gênero *Meloidogyne* spp., sendo que mais recentemente tem-se destacado o *Meloidogyne enterolobii* que tem a capacidade de quebrar a resistência a outras espécies do gênero. Além do controle genético existe uma crescente demanda para o uso de defensivos biológicos visto que a cultura da pimenta esta entre as que mais possui resíduos de agroquímicos. Assim os objetivos do presente trabalho foram identificar fontes de resistência em 66 acessos de *Capsicum chinense* e 45 de *C. baccatum* para o *M. enterolobii* inoculados com 500 ovos e eventuais juvenis através do Fator de reprodução aos 60 dias após a inoculações e verificar a intervenção de 7 espécies de *Bacillus* spp., 3 de *Pseudomonas* spp. e 3 nematicidas comerciais em *Capsicum annuum* suscetível ao *M. enterolobii*. Para tanto foram montados 3 experimentos em delineamento inteiramente casualizado em casa de vegetação do Instituto Agrônomicos do Paraná localizado em Londrina, Paraná. Foi utilizado 10 repetições para a identificação de fontes de resistência em *C. chinense* e *C. baccatum* e 8 repetições para a intervenção do controle biológico. Nos 3 experimentos o conjunto de dados foram transformados em $\ln x+1$, submetidos a análise de variância e ao agrupamento de médias de Scott-Knott à 5% de probabilidade. Para os experimentos de identificação de fontes de resistência verificou-se que nenhum genótipo obteve fator de reprodução menor que 1. Para o experimento de controle biológico verificou-se diferença para massa seca de parte aérea, altura de planta, fator de reprodução, população final e nematoides por grama de raiz, sendo que não houve diferença significativa para massa fresca de raiz e massa fresca de parte aérea. Os isolados bacterianos T2AF (*B. amyloliquefacienes*), RE (*B. megaterium*), 20T (*Pseudomonas* spp.), RD (*B. megaterium*), AG (*B. pumilus*), RM (*B. megaterium*) e RG (*B. megaterium*) diferiram da testemunha com água e nematoide para o fator de reprodução.

Palavras-chave: nematoide das galhas, pimenta e pimentão, pré-melhoramento, controle biológico, *Bacillus* spp.

***Meloidogyne enterolobii* IN *Capsicum* spp: IDENTIFICATION OF SOURCES OF RESISTANCE AND MANAGEMENT OF BIOLOGICAL PRODUCTS**

3.2 ABSTRACT

Among the pathogens that cause losses in the production of *Capsicum* spp. the root-knot nematode caused by the genus *Meloidogyne* spp. is highlighted, being more recently the *Meloidogyne enterolobii* that has the capacity to break resistance to other species of the genus. In addition to genetic control, there is a growing demand for the

use of biological pesticides, since pepper is among the ones with the most agrochemical residues. Thus the objectives of the present work were to identify sources of resistance in 66 accessions of *Capsicum chinense* and 45 of *C. baccatum* for *M. enterolobii* inoculated with 500 eggs and eventual juveniles through the Reproductive Factor at 60 days after inoculations and verify the intervention of 7 species of *Bacillus* spp., 3 of *Pseudomonas* spp. and 3 commercial nematicides in *Capsicum annuum* susceptible to *M. enterolobii*. For that, 3 experiments were set up in a completely randomized design in a greenhouse of the Instituto Agronômico do Paraná located in Londrina, Paraná. Ten replicates were used for the identification of resistance sources in *C. chinense* and *C. baccatum* and 8 replicates for the biological control intervention. In the three experiments the data set was transformed into $\ln x + 1$, submitted to analysis of variance and to the grouping of means of Scott-Knott at 5% of probability. For the experiments of identification of sources of resistance it was verified that no genotype obtained reproduction factor less than 1. For the biological control experiment it was verified difference for aerial part dry mass, plant height, reproduction factor, final population and nematodes per root grass, and there was no significant difference for fresh root mass and fresh shoot mass. Bacterial isolates T2AF (*B. amyloliquefaciens*), RE (*B. megaterium*), 20T (*Pseudomonas* spp.), RD (*B. megaterium*), AG (*B. pumilus*), RM (*B. megaterium*) and RG (*B. megaterium*) differed from the control with water and nematode for the reproductive factor.

Key-words: root-knot nematode, Chilli peppers, pre-breeding, Biological control, *Bacillus* spp.

3.3 INTRODUÇÃO

O gênero *Capsicum*, no qual incluem as pimentas e pimentões, possui grande relevância econômica sendo considerada uma das principais olerícolas no mundo. Esse gênero compreende 38 espécies, entre as quais apenas cinco são domesticadas: *C. annuum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L., *C. baccatum* L. e *C. pubescens* Ruiz et Pavon (DEWITT E BOSLAND, 2009). No Brasil, esse gênero tem um importante papel socioeconômico, biológico e cultural devido a ampla forma de utilização dos frutos na culinária, na indústria e como ornamental (SUDRÉ et al., 2010).

Apesar dos avanços fitotécnicos nos sistemas de produção do gênero *Capsicum*, os fitopatógenos são considerados um dos principais entraves para aumento da produtividade e qualidade dos frutos. Dentre as doenças que afetam a cultura destaca-se os nematoides de galhas (*Meloidogyne* spp.) ocasionado sérios prejuízos econômicos (Pinheiro et al., 2014). As espécies de maior importância econômica incluem *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *M. arenaria* (Neal) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood e *M. enterolobii* (sin. *M. mayaguensis*) Yang & Eisenback.

O *M. enterolobii* tem recebido uma elevada importância nas áreas de cultivo de *Capsicum* spp., pois as fontes de resistência efetivas contra outros nematoides do gênero *Meloidogyne* spp. são ineficazes no seu controle e também pela sua elevada virulência, provocando deformações no sistema radicular e conseqüentemente uma redução na qualidade e quantidade de frutos (CARNEIRO et al., 2006; BARBARY et al., 2015; PINHEIRO et al., 2015). Além disso, essa espécie de nematoides possui vários hospedeiros, incluindo outras hortaliças, fruteiras, florestais, ornamentais e plantas daninhas, dificultando assim o seu controle (MELO et al., 2011).

Para o desenvolvimento de programas de melhoramento é fundamental a busca por genótipos resistentes pois a resistência genética é a forma mais eficiente no controle de doenças sendo uma das prioridades em relação a resistência a nematoides (GONÇALVES et al., 2014), além de ser economicamente viável e ambientalmente seguro.

Além da identificação de fontes de resistência, outras estratégias precisam ser adotadas, como rotação ou sucessão de culturas com espécies não hospedeiras, tratamento químico e o controle biológico (COLLANGE et al., 2011; CORTE et al., 2014). Na busca por métodos eficientes e ambientalmente seguros de manejo de nematoides, inúmeras pesquisas vêm sendo desenvolvidas com o objetivo de explorar o potencial de inimigos naturais dos nematoides em programas de controle biológico (COLLANGE et al., 2011; VAZ et al., 2011).

Existem inúmeros organismos considerados inimigos naturais dos fitonematoides, como por exemplo, fungos, bactérias, nematoides predadores, protozoários, ácaros entre outros. Entre esses inimigos naturais, as bactérias que habitam a rizosfera apresentam grande potencial de controle de fitonematoides. Estas podem atuar como indutores de resistência da planta, produzir enzimas e metabólitos tóxicos, além de alterar os exsudatos radiculares, inibindo a eclosão de ovos e/ou reduzindo a atratividade dos nematoides para as raízes (LUDWIG et al., 2013; ZHU et al., 2013).

Entre as bactérias destacam-se os gêneros *Pseudomonas* spp., *Pasteuria* spp. e *Bacillus* spp. sendo que algumas espécies do gênero *Pseudomonas* são capazes de eliminar a massa gelatinosa de ovos e diminuir a eclosão de juvenis (TAVAKOL-NORABADI et al., 2013). Em relação aos *Bacillus*, os mesmos têm a capacidade de destruir a cutícula dos nematoides pela ação das proteases

favorecendo sua eliminação (NIU et al., 2006). A facilidade de produção em grande quantidade e a produção de endósporos com resistência ao calor torna a produção de bionematicidas com elevada ação antagônica viável economicamente (CHEN; DICKSON, 2004). Com base no exposto o presente trabalho tem como objetivos: *i*) identificar possíveis fontes de resistência de *Capsicum chinense* e *C. baccatum*, a *M. enterolobii*, e *ii*) avaliar a potencialidade de bactérias para controle do *M. enterolobii* em *C. annuum* em condições de casa de vegetação.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1 Identificação de Fontes de Resistência a *Meloidogyne enterolobii*

Foram avaliados 111 acessos de *Capsicum* spp. provenientes do banco de germoplasma da Universidade Estadual de Londrina (UEL), sendo 66 e 45 acessos de *C. chinense* e *C. baccatum* var. *pendulum*, respectivamente (Apêndice B).

Os acessos de *C. chinense* e *C. baccatum* avaliados nesse trabalho já foram caracterizados de forma morfológica e molecular, sendo encontrado alta variabilidade genética (BABA et al., 2016; MOREIRA et al., 2018; CARDOSO 2017). Os acessos são provenientes de 10 estados brasileiros e um deles é representante do Peru.

Foram realizados dois experimentos, sendo um para cada espécie de *Capsicum* spp. Os experimentos foram realizados em casa de vegetação pertencente ao laboratório de nematologia do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) em Londrina de novembro de 2015 a Fevereiro de 2016 para o primeiro experimento com *Capsicum chinense* e de outubro de 2016 a janeiro de 2017 para o segundo experimento com *Capsicum baccatum*. As sementes foram semeadas em bandejas de poliestireno de 128 células, com substrato Plantmax Hortaliças® e, após o surgimento de dois pares de folhas definitivas, as mudas foram transferidas individualmente para vasos plásticos de 770 mL contendo solo e areia lavada (3:1) esterilizado em calor seco (160°C) durante 5 horas. Cada vaso foi adubado, utilizando-se Osmocote® (15% N, 9% P₂O₅, 12% K₂O, 1% Mg, 2.3% S, 0.05% Cu, 0.45% Fe, 0.06% Mn, 0.02% Mo). O delineamento adotado para ambos os experimentos foi o

inteiramente casualizado, com dez repetições para a identificação de fontes de resistência e oito repetições para o controle biológico.

Foi utilizado como fonte de inóculo um isolado de *M. enterolobii* previamente identificado como 2535 mantido em tomateiros em casa de vegetação pertencente a coleção do laboratório de nematologia do Instituto Agrônomo do Paraná. O isolado foi obtido em um plantio comercial de goiaba na região de Londrina, Paraná. Para o preparo do inóculo, o isolado foi extraído de plantas de tomate (cultivar Santa Clara), por meio da metodologia de Hussey e Barker (1973), modificada por Boneti e Ferraz (1981) na qual o sistema radicular foi processado em liquidificador por 30 segundos com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% e vertidos em peneiras de 230 e 500 mesh sendo coletado a suspensão da peneira de 500 mesh em Béquer de 500 mL. Posteriormente o frasco foi agitados e contados com duas alíquotas de 1 mL com auxílio da câmara de Peters e microscópio de luz para posteriormente serem ajustados a concentração de 500 ovos de *Meloidogyne enterolobii* por mL.

Os acessos de pimenta foram inoculados com 1 mL de suspensão de nematoides 30 dias após a germinação, com auxílio de pipeta semi-automática, sendo inoculados 500 ovos viáveis e eventuais juvenis J2 por planta. As avaliações foram realizadas 60 dias após as inoculações, sendo que o sistema radicular de cada planta foi pesado e lavado para, posteriormente, ser processado individualmente de acordo com a metodologia de Hussey e Barker (1973), modificada por Boneti e Ferraz (1981) na qual foi lavada a raiz de cada planta cuidadosamente com água, posteriormente foi realizada a pesagem da massa fresca de raiz e em seguida as raízes foram trituradas em liquidificador por um período de 30 segundos com solução de hipoclorito de sódio a 0,5%. Em seguida a suspensão foi vertida em duas peneiras de 230 e 500 mesh sendo retirada a suspensão da peneira de 500 mesh em frascos de vidro previamente identificados.

Após a etapa de processamento, uma alíquota de 1 mL foi utilizada para a leitura em microscópio de luz, com auxílio da câmara de contagem de Peters, sendo realizada a contagem do número total de ovos e J2 na população final e posteriormente, com esse valor foi calculado o número de nematoides por grama de raiz de cada planta. O número de nematoides por grama de raiz (NGR) foi calculado pelo número total de nematoides dividido pela massa fresca de raiz e o fator de reprodução (FR), que é determinado pela divisão do número de nematoides viáveis da população final pelo número de nematoides da população inicial segundo

Oostenbrink (1966), dada pela fórmula $FR = Pf/Pi$, onde FR = fator de reprodução, Pf = População final e Pi = População inicial. Onde genótipos resistentes são aqueles com FR menor que 1 e suscetíveis os com FR maior que 1.

3.4.2 CONTROLE BIOLÓGICO

3.4.2.1 Material Biológico

Para análise do efeito do controle biológico, foram avaliados 18 tratamentos, sendo oito isolados de *Bacillus* spp., três isolados de *Pseudomonas* spp., três nematicidas biológicos comerciais (Nemat[®] composto por *Paecilomyces lilanus*, Votivo[®] composto por *Bacillus firmus* e Ecotrich[®] composto por *Trichoderma harzianum*) e quatro testemunhas (água + nematoide, sem água e sem nematoide, nematoide + veículo e DYGS + F4 (Apêndice C).

3.4.2.2 Origem e Multiplicação do *Meloidogyne enterolobii*

O inóculo de *M. enterolobii* utilizado está descrito no item anterior, sendo multiplicado em vasos de tomateiros da cultivar Santa Cruz. O tomateiro foi semeado em bandejas com substrato HT hortaliças e transplantado para vasos plásticos de 2L com mistura de terra e areia esterelizada na proporção 3:1. Os tomateiros inoculados foram mantidos por três meses em casa de vegetação sendo que foi realizada adubação utilizando Osmocote[®] (15% N, 9% P₂O₅, 12% K₂O, 1% Mg, 2.3% S, 0.05% Cu, 0.45% Fe, 0.06% Mn, 0.02% Mo) na dosagem de 3 gramas por planta.

3.4.2.3 Extração de Ovos de Raízes de Tomateiros Para Inoculação

Para o preparo do inóculo, foi utilizada a metodologia de Hussey e Baker (1973), modificada por Boneti e Ferraz (1981), calibrada para conter 500 ovos viáveis e eventuais juvenis por mL.

3.4.2.4 Preparo dos Isolados Bacterianos

Os isolados de *Bacillus* spp e *Pseudomonas* spp. provenientes da Universidade Estadual de Londrina (UEL) foram multiplicados no Laboratório do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia da UEL. A partir da solução estoque dos

isolados, foram retirados 40 μL de solução e inseridos em 5 mL do meio DYGS (2 g de glicose, 1,5 g de peptona, 2 g de extrato de levedura, 0,5 g de K_2HPO_4 , 0,5 g de MgSO_4 e água destilada para 1 L, pH 6,8), durante 48 horas a 180 rpm e 28°C em incubadora orbital. Em seguida, foram multiplicadas em 250 mL de meio F4 líquido — 50 g de extrato de levedura, 2 g Polivinilpirrolidona, 1 g de MgSO_4 , 0,1 g de NaCl, 4 g de KH_2PO_4 , 1,5 g de NH_4NO_3 , 2 mL de FeEDTA, 5 mL de solução de micronutriente, 50 g de glicerol, 1 g de goma xantana e 50 g de sacarose, pH 6,8 — e cultivadas por 48 horas sob agitação em incubadora orbital (180 rpm a 28 °C). Após esse período, os cultivos foram interrompidos e a concentração de células foi determinada por contagem em câmara de Neubauer, sendo então realizada a normalização da suspensão de células para 1×10^8 células·mL⁻¹, com diluição em veículo inoculante líquido Veículo (1 g de goma xantana, 200 mL de glicerol, 1 g de extrato de levedura, 1 g de polivinilpirrolidona, 1 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1,6 g de NH_4NO_3 , 0,1 g de NaCl, 4 g de KH_2PO_4 , 6 g de K_2HPO_4 , 2 mL de FeEDTA e 20 mL de solução micronutriente, pH 6,8). Para os nematicidas comerciais, foram utilizados as doses recomendadas pelos fabricantes: Ecotrich (240g·ha⁻¹), Nemat (600g·ha⁻¹) e Votivo (750 mL·ha⁻¹).

3.4.2.5 Instalação do Experimento

Sementes de pimentão cv. Ikeda (*C. annuum*), considerado suscetível a *M. enterolobii*, foram semeadas em bandejas com substrato estéril HT hortaliças®. Trinta dias após a semeadura, mudas individuais de pimentão foram transplantadas para vasos plásticos de 770 mL, contendo solo esterilizado, foi utilizada 8 repetições por tratamento em delineamento inteiramente casualizado. Após três dias do transplante das mudas, foram realizadas a inoculação dos isolados bacterianos e a aplicação dos nematicidas comerciais e, posteriormente, após quatro dias, a inoculação de 500 ovos viáveis e eventuais juvenis de *M. enterolobii* por planta. Foram realizadas irrigações diárias, sendo aplicada uma quantidade de água suficiente para atingir 60% da capacidade de campo do vaso. Após 45 dias, foi realizada a avaliação morfoagronômica das plantas altura da planta medida da base ao ápice, massa fresca através de balança analítica, massa seca da parte aérea pesada após período em estufa por 48 horas a 60°C e massa fresca da raiz pesada em balança analítica. Além dos caracteres morfoagronômicos foram avaliados a multiplicação do nematoide através do cálculo do fator de reprodução do nematoide (FR) e do número de nematoides por grama de raiz (NGR).

3.4.3 Análise dos Dados

Os dados foram submetidos à análise de homogeneidade de variância e normalidade dos dados pelos testes de Bartlett (SNEDECOR e COCHRAN, 1989) e Shapiro-Wilk (1965), respectivamente. Os dados que não apresentaram normalidade e/ou homogeneidade de variância foram submetidos à transformação por $\ln(x+1)$. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância e as variáveis que apresentaram efeito significativo foram submetidas à análise de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas pelo programa R com o pacote agricolae (<http://www.r-project.org>).

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1 Experimento 1. *Capsicum chinense*

Os acessos de *C. chinense* obtiveram altos valores de fator de reprodução (FR) e número de nematoides por grama de raiz (NGR) bem como observados na testemunha (Tomate cultivar Santa Clara), indicando boa viabilidade do inóculo bem como as condições ambientais foram consideradas satisfatórias para o desenvolvimento do experimento.

Pela análise de variância, foi observado efeito significativo ($P < 0,05$) entre os acessos de *C. chinense* para as variáveis FR e NGR, indicando a existência de uma ampla variabilidade entre os acessos (Tabela 1). O FR variou de 18,16 (UENF 1798A) a 1743,35 (UENF 1768B), com uma média de 474,37, enquanto para NGR os valores variaram de 2884,83 (UENF 1708A) a 65662,14 (UENF 1554) NGR com média de 22080,69 NGR.

Os resultados observados para FR e NGR indicam a alta agressividade desse patógeno sobre os acessos de *C. chinense* avaliados, sendo os valores obtidos superiores aos verificados por Oliveira (2007), Melo et al. (2011), Pinheiro et al. (2014) e Gonçalves et al. (2014). Pinheiro et al. (2014), avaliando a reprodução de *M. enterolobii* em 22 genótipos de pimentas do grupo habanero e murupi (ambos *C. chinense*), verificaram valores de FR variando de 1,75 a 35,33 e 1,33 a 8,43, respectivamente. Por sua vez, Gonçalves et al. (2014), avaliando 11

acessos de *C. chinense*, verificaram valores de FR variando 0,30 a 38,51, indicando o acesso UENF 1730 como resistente para *Meloidogyne enterolobii*.

As diferenças observadas de FR entre os trabalhos pode ser atribuída à metodologia de avaliação, densidade populacional de nematoides, variabilidade dos isolados e à condição ambiental (DIAS-ARIEIRA et al. 2012; ANDRADE-JÚNIOR et al. 2016). Além disso, outras variáveis, como tipo de solo e dias para avaliação, também podem influenciar os resultados obtidos. Por exemplo, Pinheiro et al. (2014) avaliaram o experimento com 70 dias após a inoculação de 5000 ovos, enquanto Gonçalves et al., (2014) avaliaram com 75 dias após inoculação de 500 ovos.

Meloidogyne enterolobii vem sendo considerada uma espécie altamente agressiva entre os nematoides das galhas, em virtude da sua ampla gama de hospedeiros e da sua capacidade de superar fontes de resistência à outras meloidogynoses, como *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* (ROSA et al., 2015; ZHUO et al., 2016). Em estudo de Pinheiro et al. (2015), *M. enterolobii* teve a capacidade de multiplicar-se em plantas com os genes *Me1* e *Me3/Me7*, que conferem resistência a *M. incognita*, *M. arenaria* e *M. javanica*, demonstrando uma alta virulência.

No presente estudo, a necessidade de avaliação de outros acessos de *C. chinense* e/ou outras espécies de *Capsicum* visando a obtenção de fontes de controle são necessárias visto que não foi encontrado nenhum acesso resistente pelo FR no presente trabalho.

Tabela 1 - Fator de reprodução (FR) e número de nematoides por grama de raiz (NGR) em 66 acessos de *Capsicum chinense* aos 60 dias após a inoculação com 500 ovos de *M. enterolobii*.

Acessos	FR	NGR	Reação
UENF 1768 B	1743,35 a	48653,00 b	S
MT 157	1305,47 b	44281,43 b	S
MT 125 B	1327,42 b	49186,57 b	S
UENF 1706	1094,78 c	43764,14 b	S
MT 149 A	1017,76 c	48913,86 b	S
MT 127	1003,81 c	33841,14 b	S
UENF 1798 AB	960,19 c	40996,00 b	S
MT 144 A	958,65 c	29605,71 b	S
MT 108	933,97 c	30958,43 b	S
UENF 1744 A	908,21 c	40678,43 b	S
UENF 1726 A	785,96 c	24015,29 c	S
UENF 1720	781,29 c	39418,71 c	S
Tomate	724,14 c	18375,14 c	S
UENF 1746 B	617,17 d	37720,50 b	S
MT 86	603,91 d	25033,29 c	S
UENF 1746 A	580,52 d	15980,14 c	S
UENF 1782	572,98 d	24837,57 c	S
MT 125 A	544,05 d	30007,80 b	S
MT 192 B	537,66 d	36291,00 b	S
UENF 1789	532,24 d	22430,50 c	S
MT 149 AB	521,07 d	23588,14 c	S
UENF 1759	516,63 d	20111,00 c	S
MT 193 A	488,94 d	12389,71 c	S
MT 118 A	464,59 d	54469,33 b	S
MT 196	451,66 d	26819,33 c	S
UENF 1768 A	442,83 d	25402,43 c	S
UENF 1753	426,55 d	15691,86 c	S
UENF 1784 A	414,60 d	13890,29 c	S
MT 158	411,51 d	27206,50 c	S
MT 123	408,44 d	24460,57 c	S
UENF 1781	407,95 d	14725,57 c	S
UENF 1709 A	400,19 d	13880,00 c	S
UENF 1804	398,95 d	33425,57 b	S
MT 145	392,70 d	12408,43 c	S
UENF 1703	387,96 d	13670,71 c	S
MT 149 B	384,15 d	20406,14 c	S
UENF 1726	344,79 e	8751,71 c	S
UENF 1759 A	327,74 e	8253,86 c	S
UENF 1763	320,05 e	9432,86 c	S
MT 149 BC	312,92 e	17686,57 c	S
UENF 1554	309,60 e	65662,14 a	S
MT 72 B	305,95 e	10095,29 c	S

Continua...

... Continuação			
MT 75	299,96 e	9729,57 c	S
UENF 1764	292,37 e	22405,00 c	S
UENF 1634 A	291,38 e	17814,60 c	S
UENF 1773	286,83 e	13298,83 c	S
UENF 1634 AB	286,65 e	18052,50 c	S
MT 85	286,21 e	12371,43 c	S
MT 148	285,17 e	10556,00 c	S
MT 195	283,54 e	8264,00 c	S
MT 136	275,85 e	8606,50 c	S
UENF 1725 A	271,70 e	9403,60 c	S
UENF 1798 B	263,29 e	24751,29 c	S
UENF 1709 AB	260,14 e	9360,33 c	S
UENF 1798 A	258,25 e	11840,14 c	S
UENF 1555	239,44 e	8035,67 c	S
UENF 1615	228,98 e	31284,40 c	S
UENF 1708 B	227,73 e	16533,00 c	S
UENF 1743	218,28 e	16021,71 c	S
UENF 1791	193,23 e	7095,00 c	S
UENF 1739	190,98 e	16694,83 c	S
MT 71	161,20 e	13086,67 c	S
MT 141	101,06 e	8867,14 c	S
MT 107	87,52 e	7993,29 c	S
UENF 1724	79,46 e	10593,17 c	S
UENF 1744 AB	22,54 e	6446,40 d	S
UENF 1708 A	18,16 e	2884,83 d	S
UENF 1768 B	1743,35 a	48653,00 b	S
MT 157	1305,47 b	44281,43 b	S
CV (%)	12,45	5,89	
Média	484,88	22251,82	

Médias de 10 repetições seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade (Dados transformados em $\ln(x+1)$).

Fonte: o próprio autor

3.5.2 Experimento 2. *Capsicum baccatum*

Para os acessos de *C. baccatum*, devido ao alto valor de FR e NGR obtidos na testemunha (Tomate cultivar Santa Clara), a viabilidade do inóculo bem como as condições ambientais foram consideradas excelentes para o desenvolvimento do experimento sendo observadas as temperaturas durante o experimento em agosto de 38°C de máxima e 13°C de mínima, no mês de setembro máxima de 40°C e mínima de 14°C e no mês de outubro máxima de 42°C e mínima de 15 °C.

Na análise de variância, foi também observado efeito significativo ($P < 0,05$) para as variáveis FR e NGR, indicando a existência de uma ampla variabilidade entre os acessos (Tabela 2). O FR variou de 21,47 (UENF 2089) a 568,48 (UENF 1628), com uma média de 329,26, enquanto para NGR, os valores variaram de 21812,25 (UENF 1704) a 3042,11 (UENF 1490), com média de 10500,43 NGR.

A espécie *C. bacatum* vem sendo amplamente estudada na prospecção de fontes de resistência à diversas doenças, sendo verificados acessos resistentes a *Rhizoctonia solani* (SINGH E SINGH, 1998), *Ralstonia solanacearum* (MATOS et al., 1990) e *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) (BENTO et al., 2009). No entanto, para os acessos avaliados, todos foram considerados altamente suscetíveis a *M. enterolobii*.

Tabela 2 - Fator de reprodução (FR) e nematoides por grama de raiz (NGR) de *Meloidogyne enterolobii* em 45 acessos de *Capsicum baccatum*, aos 60 dias após a inoculação de 500 ovos.

Acessos	FR	NGR	Reação
UENF 1628	568,48 a	14520,54 b	S
UENF 1495	517,54 a	17116,46 a	S
UENF 1714	509,95 a	19695,70 a	S
UENF 1737	501,91 a	16610,62 a	S
UENF 2143	454,12 a	15223,86 b	S
UENF 2061	411,20 a	11644,52 b	S
UENF 1733	407,14 a	10566,31 b	S
UENF 1732	391,26 b	7851,90 c	S
UENF 1704	367,07 b	21812,25 a	S
UENF 1616	366,13 b	5936,52 c	S
UENF 1556	354,55 b	10959,59 b	S
UENF 1639	353,59 b	8080,31 c	S
UENF 1635	347,65 b	14402,84 b	S
UENF 1629	345,09 b	7507,31 c	S
UENF 1500	343,42 b	10297,41 b	S
UENF 1795c	329,05 b	6712,02 c	S
UENF 2056	328,34 b	8764,93 c	S
UENF 2125f	301,59 b	7438,48 c	S
UENF 1705	293,67 b	9276,07 c	S
UENF 2068	289,47 b	8520,27 c	S
UENF 2065c	285,25 b	8811,78 c	S
UENF 2063	284,41 b	7132,33 c	S
UENF 2070	265,85 b	4889,50 d	S
UENF 1573	265,03 b	8375,39 c	S
UENF 1417	264,33 b	11005,69 b	S
Cho	261,16 b	8330,40 c	S
UENF 2148	236,55 c	9626,88 c	S
UENF 2121	216,67 c	11303,53 b	S
UENF 1638	195,19 c	4582,41 d	S
UENF 2081	183,86 c	9457,03 c	S
UENF 2060	163,48 c	5848,00 c	S
UENF 1738	153,83 c	5565,00 d	S
UENF 2146	151,77 c	3788,33 d	S
UENF 1624	141,33 c	4699,88 d	S
UENF 2103	125,55 c	6632,17 c	S
UENF 2057	124,18 c	3122,02 d	S
UENF 2119	123,79 c	4774,43 d	S
UENF 2149	122,10 c	3448,73 d	S
UENF 1490	120,67 c	3042,11 d	S
Tomate	109,84 c	2555,67 d	S
UENF 2144	98,39 c	3890,99 d	S
UENF 2132	98,18 c	2805,17 d	S

Continua...

...continuação			
UENF 2197	82,31 c	5820,30 c	S
UENF 2125g	38,63 c	1353,49 d	S
UENF 2104	32,62 c	2450,06 d	S
UENF 2089	21,47 c	1773,21 d	S
CV(%)	18,78	9,86	
Média	258,30	8219,851	

Médias de 10 repetições seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade (Dados transformados em $\ln(x+1)$).

Fonte: o próprio autor

Até o presente estudo, são relatados poucos acessos de *Capsicum* spp. com resistência a *M. enterolobii*, sendo encontrado, por exemplo, um acesso de *C. chinense* no trabalho de Gonçalves et al. (2014) e um genótipo de *C. frutescens* (OLIVEIRA, 2007). Porém, a enxertia para esse último acesso não foi eficiente, pois foram obtidas plantas enxertadas com menor vigor e produtividade. Nesse contexto, é de suma importância dar continuidade na busca de fontes de resistência a *M. enterolobii*, a fim de se utilizar esses acessos em futuros programas de melhoramento genético da cultura.

3.5.3 Experimento 3. Controle Biológico

Para o experimento de controle biológico, a testemunha com água + nematoide proporcionou FR de 57,44, indicando que as condições ambientais e a viabilidade do inóculo foram ideais ao desenvolvimento do nematoide, sendo as temperaturas mínimas e máximas foram 13 e 44°C. Pela análise de variância, foi observado efeito significativo ($P < 0,05$) para fonte de variação “tratamentos” para as variáveis FR, NGR, população final (PF), massa seca da parte aérea (MSPA) e altura de plantas (ALT) (Tabela 3 e 4). No geral, foram observados altos valores para FR, NGR e PF, com uma média de 41,13, 2276 e 20565, respectivamente (Tabela 5). O tratamento água + nematoide não diferiu estatisticamente dos tratamentos 8L (*Pseudomonas* spp.), RI (*B. pumilus*), 11L (*Pseudomonas* spp.), RA (*B. megaterium*), Dygs+F4, Veículo, Nemat, Votivo e Ecotrich, enquanto os demais tratamentos (T2AF - *B. amyloliquefaciens*, RE - *B. megaterium*, 20T - *Pseudomonas* spp., RD - *B. megaterium*, AG - *B. pumilus*, RM - *B. megaterium* e RG - *B. megaterium*) reduziram significativamente os valores das variáveis FR, NGR e PF em relação à testemunha.

Para esses tratamentos, a redução no FR foi de 60,24, 85,10, 48,08, 58,01, 43,70, 61,14 e 42,19%, respectivamente, quando comparado com a testemunha (água + nematoide).

Tabela 3 - Análise de variância para altura de planta (ALT), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa fresca de raiz (MFR) em *Capsicum annuum* inoculado com isolados bacterianos e 500 ovos e eventuais juvenis de *Meloidogyne enterolobii*.

FV	GL	Quadrado Médio			
		ALTP	MFPA	MSPA	MFR
Tratamento	17	58,74**	33,73 ^{ns}	1,25**	16,74 ^{ns}
Resíduo	117	21,72	23,89	0,54	12,01
CV (%)		22,84	30,67	36,48	36,32

**Significativo a 1% de probabilidade. ^{ns} não significativo.

Fonte: o próprio autor

Tabela 4 - Análise de variância para população final (PF), fator de reprodução (FR) e nematoides por grama de raiz (NGR) em *Capsicum annuum* inoculado com isolados bacterianos e 500 ovos e eventuais juvenis de *Meloidogyne enterolobii*.

FV	GL	Quadrado Médio		
		PF	FR	NGR
Tratamento	16	4,61**	3,27**	3,30**
Resíduo	110	0,99	0,76	0,71
CV (%)		10,48	25,95	11,51

**Significativo a 1% de probabilidade.

Fonte: o próprio autor

Tabela 5 - Fator de reprodução (FR), número de nematoides por grama de raiz (NGR), população final e redução no fator de reprodução (RFR%) de *Meloidogyne enterolobii*, massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa fresca de raiz (MFR), altura de planta (ALT) em acesso de *Capsicum annuum*.

Tratamentos	ALT	MFPA	MSPA	MFR	PF	FR	RFR%	NGR
T2AF <i>B. amiloliquefaciens</i>	15.21 B	13.31	1.52 B	7.29	11424 B	22.84 B	-60.24	1388.08 B
RE <i>B. megaterium</i>	17.95 B	12.71	1.38 B	6.06	4284 C	8.56 C	-85.10	728.09 C
20T <i>Pseudomonas sp.</i>	16.47 B	14.06	1.69 B	8.92	14924 B	29.84 B	-48.05	1822.44 B
RD <i>B. megaterium</i>	19.88 B	16.88	1.89 B	9.09	12062 B	24.12 B	-58.01	1258.08 B
8L <i>Pseudomonas sp.</i>	22.17 A	16.86	2.08 B	10.79	25507 A	51.01 A	-11.19	2215.86 A
AG <i>B. pumilus</i>	21.26 A	16.00	1.90 B	9.79	16172 A	32.34 B	-43.70	1678.44 B
RM <i>B. megaterium</i>	18.00 B	12.88	1.48 B	7.20	11160 B	22.32 B	-61.14	1408.47 B
RI <i>B. pumilus</i>	21.27 A	16.56	2.17 B	11.17	26030 A	52.06 A	-9.37	2381.58 A
11L <i>Pseudomonas sp.</i>	20.93 A	16.19	1.97 B	9.97	34942 A	69.88 A	21.66	4695.57 A
RA <i>B. megaterium</i>	19.00 B	14.75	1.96 B	9.39	26978 A	53.95 A	-6.08	3143.86 A
RG <i>B. megaterium</i>	19.04 B	13.86	1.79 B	9.06	16605 B	33.21 B	-42.18	1685.52 B
Dygs + F4	21.68 A	16.67	2.05 B	9.98	22487 A	44.97 A	-21.71	2511.18 A
Veículo	21.08 A	17.14	2.16 B	10.34	21719 A	43.43 A	-24.39	2197.87 A
Nemat	23.04 A	16.71	2.53 A	10.21	35991 A	71.98 A	25.31	3962.45 A
Votivo	25.18 A	19.69	3.05 A	10.81	15961 A	31.92 A	-44.43	1563.43 B
Ecotrich	18.68 B	15.19	2.10 B	10.96	24633 A	49.26 A	-14.24	2958.00 A
Água + nematoide	21.43 A	17.83	2.41 A	9.04	28724 A	57.44 A	0	3095.04 A
Sem água e sem nematoide	25.76 A	19.94	2.55 A	11.70				

Médias de oito repetições seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-knott. Dados de população final, Fator de reprodução, nematoides por grama de raiz e porcentagem de redução no fator de reprodução transformados para $\ln(x+1)$.

Fonte: o próprio autor

Alguns isolados da espécie *B. megaterium* possuem atividade antagonista, pois produzem compostos voláteis como benzeno acetaldeído, nonanal, decanal, 2-undecanona e dissulfureto de dimetilo, que são letais e podem inibir a eclosão de ovos de nematoides (HUANG et al. 2010). Segundo Vary (1992), estirpes de *B. megaterium* podem produzir compostos antibióticos, sendo que para El-Hadad et al. (2010), *B. megaterium* aumenta a atividade enzimática pela produção de proteases, quitinases e gelatinases, demonstrando o potencial como agente de controle biológico.

Bacillus firmus tem sido relatada como espécie produtora de toxinas com atividade ovicida, que danificam a película externa dos ovos e juvenis de nematoides (TEREFE et al., 2009). Em relação ao gênero *Pseudomonas* spp., como *P. fluorescens*, esse diminui a eclosão de juvenis e destrói a massa gelatinosa de ovos de nematoides (TAVAKOL-NORABADI et al., 2013).

Para Chaurasia et al. (2005), a competição, parasitismo e produção de metabólitos pela fermentação bacteriana são os mecanismos que estão envolvidos no controle de nematoides pelas bactérias. Em condições de casa de vegetação e campo, as bactérias atuam na orientação e sobrevivência dos nematoides, bem como interferem no ciclo reprodutivo (SHARMA E GOMES, 1996).

O gênero *Bacillus* spp. forma esporos que funcionam como estruturas para a sobrevivência em condições desfavoráveis permitindo maior longevidade de produtos bionematicidas pois permanecem inativos por longos períodos e germinam em condições favoráveis (CHEN; DICKSON, 2004). Em trabalho de Zhou et al. (2016), utilizando *B. amyloliquefaciens* (sin *B. velezensis*), este apresentou ação efetiva na redução de *M. incognita* em ensaios em casa de vegetação na cultura do tomateiro e ensaios *in vitro*. Em estudo de Xiang et al. (2017) com nove espécies de *Bacillus* spp., os autores observaram que a espécie que mais reduziu o número de ovos por grama de raiz de *M. incognita* em algodão foi *B. velezensis*, quando comparada com a testemunha com água, em ensaios em casa de vegetação sendo que neste mesmo estudo, foi também verificada atividade nematicida de *B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis* e *B. firmus*.

Em estudo de Kloepper et al. (1992) com isolados de *B. megaterium* e *B. pumilus*, houve redução de cistos de *Heterodera glycines* e galhas de *M. incognita* na cultura da soja. Foi observada em estudo de Mendoza et al. (2008) em testes *in*

vitro, foi observada associação entre a produção de metabólitos secundários liberados por *B. firmus* e a mortalidade de *M. incognita*.

Pesquisas sobre o modo de ação dos isolados bacterianos e sua influência nos nematoides de galhas devem ser aprimoradas, uma vez que os isolados bacterianos possuem potencial para diminuir a população de nematoides. Além disso é interessante a verificação da possibilidade de serem utilizados conjuntamente com os nematicidas químicos e a rotação de culturas com plantas não hospedeiras, de modo a maximizar o manejo de nematoides.

No momento não existem nematicidas microbiológicos registrados para a cultura do pimentão contra o *Meloidogyne enterolobii*, entretanto, para *Meloidogyne incognita* e *javanica*, encontra-se registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento o 'Nemat', com o princípio ativo do fungo *Paecilomyces lilacinus*, 'Votivo', formulado a partir da bactéria *Bacillus firmus* sendo este último registrado para soja e algodão (AGROFIT, 2018). O 'Ecotrich WP', formulado a partir do fungo *Trichoderma harzianum*, usado para controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani* na cultura da soja e alface. No entanto existe a necessidade de mais estudos relatando a eficiência desses produtos na cultura do pimentão contra o *Meloidogyne enterolobii*.

Para as características morfológicas das plantas, foi observada a formação de dois grupos para altura de planta, sendo que os tratamentos 8L, AG, RI, 11L, Dygs+F4, Veículo, Nemat e Votivo não diferiram dos tratamentos controles (água + nematoide e sem água e sem nematoide) (Tabela 5). Para o restante dos tratamentos, houve leve redução na altura de planta.

Para a variável MFR, não foi observada diferença entre os tratamentos, indicando que a utilização desses isolados não proporcionou maior crescimento das raízes. Resultados semelhantes foram obtidos para MFR e MFPA, onde não foi observada a superioridade de nenhum tratamento quando comparado com as duas testemunhas.

As bactérias promotoras de crescimento vegetal produzem compostos como fitormônios, ácidos orgânicos e sideróforos para melhorar a fixação de nitrogênio, solubilizar fósforo e produzir compostos tóxicos para outros fitopatógenos (GLICK, 1995). Para o gênero *Bacillus* spp., tem sido verificada a dupla aptidão, ou seja, atuando no controle de fitopatógenos e promovendo o crescimento

de plantas (HUANG et al. 2010). No entanto, no presente trabalho não foi observado esse efeito na promoção de crescimento do sistema radicular.

Em trabalho de Higaki (2012), foi observado aumento de massa fresca de raiz em genótipos de algodão IAC 25 infestados com *Rotylenchulus reniformis* e *Pratylenchus brachyurus* e inoculados com *B. subtilis*. Porém, neste mesmo trabalho, no genótipo Nuopal, houve menor incremento na massa fresca de parte aérea, demonstrando que os genótipos possuem diferentes respostas à inoculação da bactéria. O mesmo resultado foi encontrado em genótipos de cana-de-açúcar em trabalho de Mazzuchelli e Araújo (2011) usando *B. subtilis*, em que diferentes variedades apresentam diferentes respostas ao tratamento biológico.

Para MSPA, houve a formação de dois grupos, sendo Nemat, Votivo, Água + nematoide e Sem água e sem nematoide os que obtiveram maior massa seca da parte aérea, diferindo dos tratamentos T2AF, RE, 20T, RD, 8L, AG, RM, RI, 11L, RA, RG, Dygs+F4, Veículo e Ecotrich.

Essas diferenças encontradas são devido à capacidade de cada isolado em atuar no controle de nematoides por diversos mecanismos e promover o crescimento vegetal (MACIEL e FERRAZ, 1996). Portanto, a aplicação de isolados bacterianos, principalmente de *Bacillus* spp., tem potencial como agente de biocontrole do gênero *Meloidogyne* spp.. No entanto, mais estudos bioquímicos e fisiológicos devem ser realizados com o objetivo de compreender os mecanismos envolvidos na interação tripla planta x bactéria x nematoides.

3.6 CONCLUSÕES

Não foram encontrados genótipos de *Capsicum chinense* e *Capsicum baccatum* resistentes a *Meloidogyne enterolobii*. Houve redução no fator de reprodução, número nematoides por grama de raiz e população final com a utilização dos isolados T2AF (*B. amyloliquefacienes*), RE (*B. megaterium*), 20T (*Pseudomonas* spp.), RD (*B. megaterium*), AG (*B. pumilus*), RM (*B. megaterium*) e RG (*B. megaterium*). No entanto, deve-se adotar medidas de manejo integrado com produtos químicos, rotação de culturas e evitar plantas hospedeiras, com o objetivo de minimizar os danos provocados por *Meloidogyne enterolobii*.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, 2018.
- ALBUQUERQUE, F. S. Lâminas de irrigação e doses de potássio em um cultivo de pimentão fertirrigado na região metropolitana do Recife. 90f. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.
- ALMEIDA, E.J.; SOARES, P.L.M.; SILVA, A.R.; SANTOS, J.M. New records on *Meloidogyne mayaguensis* in Brazil and comparative study with *M. incognita*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 32, n. 3, p. 236-241, 2008.
- ANDRADE JÚNIOR, V. C.; GOMES, J. A. A.; OLIVEIRA, C. M.; AZEVEDO, A. M.; FERNANDES, J. S. C.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R. Resistência de clones de batata-doce a *Meloidogyne javanica*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.34, p.130-136, 2016.
- ANDREWS J. **Pepper: The Domesticated Capsicum**. Texas: University of North Texas, 1995.
- ANWAR, S. A.; MCKENRY, M. V. Incidence and population density of plant-parasitic nematodes infecting vegetable crops and associated yield losses in Punjab, Pakistan. **Journal of Zoology**. London. v. 44, p.327-333. 2012.
- ARAÚJO F.F.; MARCHESI G. V. P. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. **Ciência Rural**, Santa Maria 39(5):1558–1561 (2009).
- BABA, V. Y; ROCHA, K. R; GOMES, G. P; RUAS, C. F; RUAS, P. M; RODRIGUES, R; GONÇALVES, L. S. A. Genetic diversity of *Capsicum chinense* accessions based on fruit morphological characterization and AFLP markers. **Genetics Resource and Crop Evolution**, Dordrecht p. 1371-1381, vol.63, 2016.
- BABU, B. S.; PANDRAVADA, S. R.; PRASADA-RAO, R. D. V. J.; ANITHA, K.; CHAKRABARTY, S. K.; VARAPRASAD, K. S. Global sources of pepper genetic resources against arthropods, nematodes and pathogens. **Crop Protection** Guildford 30:389-400, 2011.
- BARBARY, A.; DJIAN-CAPORALINO C.; PALLOIX A.; CASTAGNONE-SERENO P. Host genetic resistance to root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., in Solanaceae: from genes to the field. **Pest Management Science** Sussex 71, 1591-1598. 2015.
- BENTO, C.S.; RODRIGUES, R.; GONCALVES, L. S. A.; OLIVEIRA, H. S.; SANTOS, M. H.; PONTES, M. C.; SUDRE, C. P. Inheritance of resistance to *Pepper yellow mosaic virus* in *Capsicum baccatum* var. *pendulum*. **Genetics and Molecular Research**, Warren v. 12, p. 1074-1082, 2013.

BENTO, C. S.; RODRIGUES, R.; ZERBINI JÚNIOR, F. M.; SUDRÉ, C. P. Sources of resistance against the *Pepper yellow mosaic virus* in chili pepper. **Horticultura Brasileira**, Brasília 27: 196-201. 2009.

BETTIOL, W. Componentes do controle biológico de doenças de Plantas. In: BETTIOL, W. (Ed.). Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna: **Embrapa-CNPMA**, p. 1-5. 1991.

BIANCHETTI, L. B. Aspectos morfológicos, ecológicos e biogeográficos de dez táxons de *Capsicum* (Solanaceae) ocorrentes no Brasil. **Dissertação** (Mestrado em botânica). Brasília, UNB, 174p. 1996.

BITENCOURT, N. V.; SILVA, G. S. Reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em olerícolas. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 34, n. 3, p. 181-183, 2010.

BLOK, V. C.; POWERS, T.O. Biochemical and molecular identification. p. 98–112 in R. N. Perry, M. Moens and J. Starr, eds. **Root-knot nematodes**. Lincoln: CABI. 2009.

BONETTI, J. I.; FERRAZ, S. Modificações no método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 6: 533, 1981.

BOSLAND, P. W. *Capsicum*: Innovative uses of an ancient crop. p. 479-487. In: J. Janick (ed), **Progress in new crops**. ASHS Press, Arlington, VA. 1996.

BROADBENT, P.; BAKER, K. F. M.; FRANK, S. N.; HOLLAND, J. Effect of *Bacillus* sp. on increased growth of seedlings in steamed and non treated soil. **Phytopathology**, Saint Paul 67:1027–1034, 1977.

BÜTTOW, M. V.; BARBIERI, R. L.; NEITZKE, R. S.; HEIDEN. G.; CARVALHO, F. I. F. Diversidade genética entre acessos de pimentas e pimentões da Embrapa Clima Temperado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.6, p.1.264-1.269, 2010.

CAMPOS, V. P. **Manejo de doenças causadas por fitonematóides**. Lavras: UFLA, v. 1, 106 p. 1999.

CANTU, R. R.; WILCKEN, S. R. S.; ROSA, J. M. O.; GOTO, R. Reação de porta-enxertos comerciais de tomateiro a *Meloidogyne mayaguensis*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n.2, p. 216-218, 2009.

CARDOSO, RAFAELLA. Caracterização morfológica e molecular de acessos de *Capsicum baccatum* L. 67 folhas. **Dissertação** do Mestrado em Genética e Biologia Molecular – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2017.

CARNEIRO, R. G.; MÔNACO, A. P. A.; MORITZ, M. P.; NAKAMURA, K. C.; SCHERER, A. Identificação de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e em plantas invasoras, em solo argiloso, no Estado do Paraná. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 30, n. 3, p. 293-298, 2006.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n.1, p.35-44. 2001.

CARNEIRO, R. M. D. G. Uma visão mundial sobre a ocorrência e patogenicidade de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e outras culturas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, XXIV, Petrolina-PE. **Resumos**, p. 22, 2003.

CARNEIRO, R.M.D.G. et al. Resistance to *Meloidogyne mayaguensis* in *Psidium* spp. Accessions and their grafting compatibility with *P. guajava* cv. 'Paluma'. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília v.32, p.281-284, 2007.

CARVALHO, S. I.; BIANCHETTI, L. B. Botânica e recursos genéticos. In: RIBEIRO, C. S. C.; LOPES, C. A.; CARVALHO, S. I. C.; HENZ, G. P.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. **Pimentas *Capsicum***. Brasília: Embrapa Hortaliças. Cap. 5, p. 39-54, 2008.

CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. B. (2004). Sistema de produção de pimentas (*Capsicum* spp.) : botânica. **Embrapa Hortaliças**. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/sistprod/pimenta/botanica.htm>>. Acesso em: julho de 2017.

CASTAGNONE-SERENO P. *Meloidogyne enterolobii* (= *M. mayaguensis*): profile of an emerging, highly pathogenic, root-knot nematode species **Nematology**, Leiden 14, pp. 133-138. 2012.

CAZORLA, F. M.; ROMERO, D.; PÉREZ-GARCÍA, A.; LUGTENBERG, B. J. J.; VICENTE, A.; BLOEMBERG, G. (2007) Isolation and characterization of antagonistic *Bacillus subtilis* strains from the avocado rhizoplane displaying biocontrol activity. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford 103:1950–1959.

CELIK, I.; SOGUT, M. A.; OZKAYNAK, E.; DOGANLAR, S.; FRARY, A. Physical mapping of NBS-coding resistance genes to the Me-gene cluster on chromosome P9 reveals markers tightly linked to the N gene for root-knot nematode resistance in pepper. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v.36, p.137. 2016.

CHAURASIA, B.; PANDEYA, A.; PALNIB, L. M. S.; TRIVEDIA, P.; KUMARA, B.; COLVINC, N. Diffusible and volatile compounds produced by an antagonistic *Bacillus subtilis* strain cause structural deformations in pathogenic fungi *in vitro*. **Microbiological Research**, Jena, 160:75–81. 2005.

CHEN, Z. X.; DICKSON, D. W. Biological control of nematodes with bacterial antagonists. CHEN, Z.X.; CHEN, S.Y.; DICKSON, D.W. (eds). **Nematology – Advances and perspectives**. Vol II, Nematode management and utilization. CABI Publishing, Cambridge, p. 1041-1062, 2004.

COLLANGE, B.; NAVARRETE, M.; PEYRE, G.; MATEILLE, T.; TCHAMITCHIAN, M. Root-knot nematode (*Meloidogyne*) management in vegetable crop production: the challenge of an agronomic system analysis. **Crop Protection**, Guildford, v. 30, n. 10, p. 1251-1262, 2011.

- CORTE, G. D.; PINTO, F. F.; STEFANELLO, M. T.; GULART, C.; RAMOS, J. P.; BALARDIM, R. S. Tecnologia de aplicação de agrotóxicos no controle de fitonematoides em soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 9, p. 1534-1540, 2014.
- COYNE, D. L.; FOURIE, H. H.; MOENS, M. Current and Future Management Strategies in Resource-poor Farming. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J.L (Ed.). *Root-knot Nematodes*. UK: **CAB International**, p.444-475, 2009.
- D'ARCY, W. G; ESHBAUGH, W. H. **New World peppers (Capsicum–Solanaceae) north of Colombia**: a resume. *Baileya*. v.19, p. 93–105, 1974.
- DE LEY, P.; BLAXTER, M. L. Systematic position and phylogeny. In: LEE, D. L. (Ed.). **The biology of nematodes**. London, p. 1-30. 2002.
- DeWITT, D.; BOSLAND, P. W. **The complete Chile Pepper Book**. A Gardener's Guide to Choosing, Growing, Preserving and Cooking. London, 336 p. 2009.
- DIAS-ARIEIRA, C. R.; CUNHA T. P. L.; CHIAMOLERA, F. M.; PUERARI, H. H.; BIELA, F.; SANTANA, S. M. Reaction of vegetables and aromatic plants to *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.30, p.322-326, 2012.
- DINIZ, G. M. M.; CANDIDO, W. S.; SILVA, E. H. C.; MARIN, M. V. I.; FRANCO, C. A.; BRAZ, L. T.; SOARES, P. L. M. Screening melon genotypes for resistance to *Meloidogyne enterolobii*. **African Journal of Agricultural Research**, Nigéria, v. 11, n. 26, p. 2.271-2.276, 2016.
- DJIAN-CAPORALINO C.; FAZARI, A.; ARGUEL, M. J.; VERNIE, T.; VAN-DECASTEELE, C.; FAURE, I.; BRUNOUD, G.; PIJAROWSKI, L.; PALLOIX, A.; LEFEBVRE, V.; ABAD, P. Root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) Me resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) are Clustered on the P9 chromosome. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.114(3): p.473–486. 2007.
- DJIAN-CAPORALINO, C.; PIJAROWSKI, L.; JANUEL, A.; LEFEBVRE, V.; DAUBEZE, A.; PALLOIX, A.; DALMASSO, A.; ABAD, P. A spectrum of resistance to root knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) and inheritance of heat-stable resistance in the PM687 line derived from PI 322719. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.99, n.4, p.496- 502, 1999.
- DJIAN-CAPORALINO, C.; PIJAROWSKI, L.; FAZARI, A.; SAMSON, M.; GAVEAU, L.; O'BYRNE, C.; LEFEBVRE, V.; CARANTA, C.; PALLOIX, A.; ABAD, P. High-resolution genetic mapping of the pepper (*Capsicum annuum* L.) resistance loci *Me3* and *Me4* conferring heat-stable resistance to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.103, n.4, p.592-600, 2001.
- DJIAN-CAPORALINO, C., BERTHOU, F.; FAZARI, A.; LEFEBRE, V.; PALLOIX, A.; PEGARD, A.;PIJAROWKI, L. 2004. Genetic, cytological and molecular bases of the resistance to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in pepper (*Capsicum annuum* L.). Proc. 12th Eucarpia Meeting on **Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant**, 17–19 May 2004, Noordwijkerhout, the Netherlands. 180.

DONG, L. Q.; ZHANG, K. Q. Microbial control of plant-parasitic nematodes: a five-party interaction. **Plant and soil**, The Hague, v. 288, n. 1, p. 31-45, 2006.

EL-HADAD, M. E.; MUSTAFA, M. I.; SELIM, S. M.; MAHGOOB, A. E. A.; EL-TAYEB, T. S.; AZIZ, N. H. A. *In vitro* evaluation of some bacterial isolates as biofertilizers and biocontrol agents against the second stage juveniles of *Meloidogyne incognita*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v.26, p.2249–2256, 2010.

ESHBAUGH, W. H. A. Biosystematic and Evolutionary Study of *Capsicum baccatum* (Solanaceae). **Brittonia**, Bronx, v.22, p.31-43, 1970.

FAOSTAT - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2014. **Agricultural production**. Disponível em: <<http://www.faostat.fao.org>> Acesso em: 20 de Jan, 2017.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**, v.1, 3 ed, São Paulo: Ceres, p.168-201. 1995.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. de; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. **Manejo sustentável de fitonematoide**. Viçosa: Editora UFV, 306 p. 2010.

FERRAZ, S.; SANTOS, M. A. Controle biológico de fitonematóides pelo uso de fungos. **Revisão Anual de Proteção de Plantas**, Passo Fundo, v.3, p. 283-314, 1995.

FERREIRA, S.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; CAMPOS, V. P.; DE CARVALHO FILHO, J. L. S.; SANTOS, D. C. Resistance of dry bean and snap bean cultivars to root-knot nematodes. **HortScience**, Alexandria, v. 45, n. 2, p. 320-322, 2010.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, 402p. 2008.

FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução a Nematologia**. Viçosa: Editora UFV. 84p. 2001.

GLICK, R. B. The enhancement of plant growth promotion by free living bacteria. **Canadian Journal of Microbiololy**, Ottawa, v.41, p.109–117. 1995.

GONÇALVES, L. S. A.; GOMES, V. M.; ROBAINA, R. R.; VALIM, R. H.; RODRIGUES, R.; ARANHA, F. M. Resistance to root-knot nematode (*Meloidogyne enterolobii*) in *Capsicum* spp. accessions. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias (Agrária)**, Recife, v. 9 n.1, p. 49-52, 2014.

GUIMARÃES, L. M.; MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R. Parasitismo de *Meloidogyne mayaguensis* em diferentes espécies botânicas. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 27, n.2, p. 139-145, 2003.

HARE, W. W. Inheritance of resistance to root-knot nematodes in pepper. **Phytopathology**, Saint Paul, v.47, p.455-459, 1957.

HENDY, H.; POCHARD, E.; DALMASSO, A. Transmission hereditaire de la resistance aux nématodes *Meloidogyne Chitwood* (Tylenchida) portée par 2 lignées de *Capsicum annuum* L., étude de descendance homozygotes issues d'androgenèse. **Agronomie**, Paris, v. 5, n. 2, p. 93-100, 1985.

HIGAKI, W. A.; ARAUJO, F. F. *Bacillus subtilis* e abamectina no controle de nematoides e alterações fisiológicas em algodoeiro cultivado em solos naturalmente infestados. **Nematropica**, Flórida, v.42, n.2, p. 295-303, 2012.

HUANG Y, X. U. C; MA, L.; ZHANG, K.; DUAN, C.; MO, M. Characterization of volatiles produced from *Bacillus megaterium* YFM3.25 and their nematocidal activity against *Meloidogyne incognita*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.126, p.417-422. 2010.

HUNT, D. J.; HANDOO, Z. A. Taxonomy, identification and principal species. In: Root-knot Nematodes. PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (eds.). **CABI International**, Cambridge, MA, USA: 1-17, 2009.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inoculate of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Report**, Washington, v. 57, n. 2, p. 1025-1028, 1973.

HUSSEY, R. S.; GRUNDLER, F. M. W. Nematode parasites of plant. In: PERRY, R.N.; WRIGHT, D.J. The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes. **CABI**, New York, p.213-244. 1998.

IEA (INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA). **Área e produção dos principais produtos da agropecuária**. [São Paulo], 2014. Banco de dados: estatísticas da produção paulista. Disponível em: <http://ciagri.iea.sp.gov.br/nia1/subjetiva.aspx?cod_sis=1&idioma=1>. Acesso em: 12 fev. 2018.

IWAHORI, H.; TRUC, N. T. N.; BAN, D. V.; ICHINOSE, K. First report of root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* on guava in Vietnam. **Plant Disease**, Saint Paul, v.93(6), p. 675-675 2009.

JATALA, P. Biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.24, p 453-489, 1986.

JOUZANI, G.S.; SEIFINEJAD, A.; SAEEDIZADEH, A.; NAZARIAN, A.; YOUSEFLOO, M.; SOHEILIVAND, S.; MOUSIVAND, M.; JAHANGIRI, R.; YAZDANI M.; AMIRI, R. M.; AKBARI, S. Molecular detection of nematocidal crystalliferous *Bacillus thuringiensis* strains of Iran and evaluation of their toxicity on free-living and plant-parasitic nematodes. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.54, p.812-822. 2008.

KERRY, B. R. An assessment of progress toward microbial control of plant-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 22, n. 4, p. 621-631, 1990.

- KLOEPPER, J. W.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; MCINROY, J. A.; YOUNG, R. W. Rhizosphere bacteria antagonistic to soybean cyst (*Heterodera glycines*) and root-knot (*Meloidogyne incognita*) nematodes: identification by fatty acid analysis and frequency of biological control activity. **Plant and Soil**, The Hague, v. 139, p. 75–84, 1992.
- LI, M.; WHEN, F.; YING, H.; HE, M. M.; QIN, X. J.; QING, D. Y.; HUANG, F. D.; HUI, Y. S. A strategy to discover potential nematicidal fumigants based on toxic volatiles from nematicidal bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, Nigéria, v.6 (31), p.6106–6113. 2012.
- LIMA, I. M.; DOLINSKI C. M.; SOUZA, R. M. Dispersão de *Meloidogyne Mayaguensis* em goiabais de São João da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros dentre plantas invasoras e cultivadas. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 27, n. 2, 257-258. 2003.
- LOPES, R. B. A Indústria no controle biológico: produção e comercialização de microrganismo no Brasil. In: BETTIOL, W; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa, p. 15-28. 2009.
- LORITO, M.; WOO, S. L. Trichoderma: a multipurpose tool for Integrated pest management. Chapter 36. **Principles of Plant-Microbe Interactions**, Switzerland, p.345–353. (2015).
- LUDWIG, J.; MOURA, A. B.; GOMES, C. B. Potencial da microbiolização de sementes de arroz com rizobactérias para o biocontrole do nematoide das galhas. **Tropical plant pathology**. Brasília, v.38, n.3, p.264-268. 2013.
- MACHADO, A. C. Z. Current nematode threats to Brazilian agriculture. **Current Agricultural Science and Technology**, Pelotas, v.20, n.1, p.26-35, 2014.
- MACIEL, S. L.; FERRAZ, L. C. C. B. Reprodução de *Meloidogyne incognita* raça 2 e de *Meloidogyne javanica* em oito espécies de plantas medicinais. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.53, p.956-960, 1996.
- MARINO, R. H.; GOMES, L. A. A.; OLIVEIRA, C. E. M.; SILVA, A. D. C.; BIANCHINI, F. G.; MENESES, T. N.; BLANK, A. F. Controle de *Meloidogyne incognita* raça 1 com óleo essencial de *Lippia alba*. **Scientia Plena**, São Cristovão, v.8: 1-8. 2012.
- MATOS, F. S. A.; LOPES, C. A.; TAKATSU, A. Identification of sources of resistance to *Pseudomonas solanacearum* in *Capsicum* spp. **Horticultura Brasileira**. Brasília, v.8, p.22-23, 1990.
- MAZZUCHELLI, R. C. L.; ARAÚJO, F. F. Eficácia do controle de nematóides por *Bacillus subtilis* em duas variedades de cana-de-açúcar. Encontro de Ensino, Pesquisa e Extensão. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, vol. 7. P.51-58. 2011.

- MELO, O. D. D.; MALUF, W. R.; GONÇALVES, R. J. D. S.; GONÇALVES NETO, Á. C.; GOMES, L. A. A.; CARVALHO, R. D. C. Screening vegetable crop species for resistance to *Meloidogyne enterolobii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 8, p. 829-835, 2011.
- MENDOZA, A.R.; KIEWNICK, S.; SIKORA, R.A. *In vitro* activity of *Bacillus firmus* against the burrowing nematodes *Radopholus similis*, the root knot nematode *Meloidogyne incognita* and the stem nematode *Ditylenchus dipsaci*. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v.18, p.377–389, 2008.
- MERRIMAN, P. R.; PRINCE, R. D.; KOLLMORGEN, J. F.; PIGGOTT T.; RIDGE, E. H. Effect of seed inoculation with *Bacillus subtilis* and *Streptomyces griseus* on the growth of cereals and carrots. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria v.25, p.219–226, 1974.
- MOENS, M.; PERRY, R. N.; STARR, J. L. *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important plant parasites. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. Root-knot nematodes. **CAB International**. Wallingford, p. 1-17. 2009.
- MONTEIRO, J. M. S. Resistência a *Radopholus similis* e detecção de nematoides fitoparasitas em bananeiras triploides e tetraploides no Brasil. **Dissertação** (Mestrado em Fitopatologia) Universidade de Brasília, Brasília. 2011.
- MORANDI, M. A. B; BETTIOL, W. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa, p 7-14. 2009.
- MOREIRA, A. F. P. ; RUAS, P. M. ; RUAS, C. F. ; BABA, V. Y. ; GIORDANI, W. ; ARRUDA, I. M. ; RODRIGUES, R. ; GONCALVES, L. S. A. . Genetic diversity, population structure and genetic parameters of fruit traits in *Capsicum chinense*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.236, p.1-9, 2018.
- MOSCONE, E. A.; SCALDAFERRO, M. A.; GRABIELE, M.; CECCHINI, N. M.; GARCÍA, Y. S.; JARRET, R.; DAVIÑA, J. R.; DUCASSE, D. A.; BARBOZA, G. E.; EHRENDORFER, F.; The evolution of chili peppers (*Capsicum* – Solanaceae): a cytogenetic perspective. **Acta Horticulturae**, The Hague, v.745, p.137-169, 2007.
- MOSES, M.; UMAHARAN, P. Genetic structure and phylogenetic relationships of *Capsicum chinense*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria v.137, n. 4, p. 250–262. 2012.
- NIU, Q. H.; HUANG, X. W.; ZHANG, L.; YANG, J. K.; ZHANG, K. Q. A neutral protease from *Bacillus nematocida*, another potential virulence factor in the infection against nematodes. **Archives Microbiology**, Berlim v. 185, p. 439–448, 2006.
- OLIVEIRA, D.C. Enxertia de plantas de pimentão em *Capsicum* spp. no manejo de Nematoides de galha. 134p. **Tese** (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2007.
- OLIVEIRA, D. C.; BRAZ, L. T.; SANTOS, J. M.; BANZATTO, D. A.; OLIVEIRA, P. R. Resistência de pimentas a nematoides de galha e compatibilidade enxerto/ porta-

enxerto entre híbridos de pimentão e pimentas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 4, p. 520-526, 2009.

OLIVEIRA, R. D. L.; SILVA, R. V.; PARIZZI, P. **Análise de risco de pragas não quarentenárias regulamentadas**. 2010. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/servlet/VisualizarAnexo?id=15150>>. Acesso em 23 jan. 2017.

OOSTENBRINK, R. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. **Mededeelingen der Landbouw**, Hoogeschool, v.66, p.1-46, 1966.

OOSTENDORP, M.; SIKORA, R.A. *In vitro* interrelationships between rhizosphere bacteria and *Heterodera schachtii*. **Revue de Nématologie**, Bondy, v.13, p.269-274, 1990.

ORION, D.; G. KRITZMAN. Antimicrobial activity of *Meloidogyne javanica* gelatinous matrix. **Revue de Nématologie** Bondy, v.14, p.481–483, 1991.

PAES, V. D. S.; SOARES, P. L.; MURAKAMI, D. M.; SANTOS, J. M. D.; BARBOSA, B. F.; NEVES, S. S. Occurrence of *Meloidogyne enterolobii* on muricizeiro of (*Byrsonima cydoniifolia*). **Tropical Plant and Pathology**, Viçosa, v. 37, n. 3, p. 215-219, 2012.

PEGARD, A.; BRIZZARD, G.; FAZARI, A.; SOUCAZE, O.; ABAD, P.; DJIAN-CAPORALINO, C. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.95, p.158–165, 2005.

PINHEIRO, J. B.; AMARO, G. B.; PEREIRA, R. B. Nematoides em pimentas do gênero *Capsicum*. Circular Técnica, **Embrapa**, Brasília, v. 1, n. 1, p.1-9, 2012.

PINHEIRO, J. B.; BOITEUX, L. S.; ALMEIDA, M. R. A.; PEREIRA, R. B.; GALHARDO, L. C. S.; CARNEIRO, R. M. D. G. First Report of *Meloidogyne enterolobii* in *Capsicum* Rootstocks Carrying The *Me1* and *Me3/Me7* Genes in Central Brazil. **Nematropica**, Flórida, v. 45, n. 2, p. 184-188, 2015.

PINHEIRO, J. B.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; PEREIRA, R. B.; MOITA, A. W. Reação de genótipos de *Capsicum* ao nematoide-das-galhas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 371-375, 2014.

REIFSCHNEIDER, F. J. B. **Capsicum: pimentas e pimentões no Brasil**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças, 2000.

REZENDE, J. F. Novo gene de resistência ao *PepYMV* em *Capsicum annum* L. Lavras: UFLA. 58p. **Dissertação**. 2015.

RIBEIRO, C. S. C.; CARVALHO, S. I. C.; LOPES, C. A.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. **Pimentões e pimentas do gênero *Capsicum***. In: ALBUQUERQUE, A.C.S., SILVA, A.G.S. (org). Agricultura tropical - quatro décadas de inovações tecnológicas,

institucionais e políticas. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 1, p. 595-608, 2008.

RICH, J. R.; BRITO, J. A.; KAUR, R.; FERRELL, J. A. Weed species as hosts of *Meloidogyne*: A review. **Nematropica**, Flórida, v.39, p.157-185, 2009.

ROSA, J. M. O.; WESTERICH, J. N.; WILCKEN, S. R. S. *Meloidogyne enterolobii* reproduction on vegetable crops and plants used as green manure. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 46, n. 4, p. 826-835, 2015.

SALGADO, S. M. L.; RESENDE, J. C. Manejo de fitonematoides em cafeeiro. In P. R. Reis and R. L. Cunha. (Eds.), **Café arábica do plantio à colheita** (p. 757-804). Lavras: Epamig. 2010.

SÁNCHEZ-SOLANA, F.; ROS, C.; GUERRERO, M. D. M.; MARTÍNEZ, V.; LACASA, C. M.; HERNÁNDEZ, A. Effectiveness of quantitative resistance conferred by the genetic background of pepper in the control of root-knot nematodes and influence onto durability of *Me1* and *Me3* resistant genes in greenhouse conditions. **Plant Breeding**, Berlin, v.136(5), p.759–766, 2017.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, London, v.52(3–4), p.591–611, 1965.

SHARMA, R. D.; GOMES, A. C. Controle biológico de *Meloidogyne arenaria* com *Pausteria penetrans*. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v.23(1), p.47–52, 1996.

SIDDIQUI, I. A.; QURESHI, S.A.; SULTANA, V.; EHTESHAMULHAQUE, S.; GHAFFAR, A. Biological control of root knot disease complex of tomato. **Plant & Soil**, The Hague, v.227, p.163-169, 2000.

SINGH, A. K.; SINGH, A. Genetic studies of polygenic traits in chili (*Capsicum annuum* L. **Crop Research**, Hisar, v.15, p.61-62, 1998.

SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. 8th ed. Ames: Iowa State University Press. 503p. 1989.

SOUZA, R. M.; NOGUEIRA, M. S.; LIMA, I. M.; MELARATO, M.; DOLINSKI, C. M. Management of the guava root-knot nematode in São João da Barra, Brazil, and report of new hosts. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 30, n. 2, p. 165-169, 2006.

SOUZA-SOBRINHO, F.; MALUF, W. R.; GOMES, L. A.; CAMPOS, V. P. Inheritance of resistance to *Meloidogyne incognita* race 2 in the hot pepper cultivar Carolina Cayenne (*Capsicum annuum* L.). **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v.1, p.271–279, 2002.

SOUZA SOBRINHO, F. S. Herança da reação de resistência à raça 2 de *Meloidogyne incognita* na pimenta *Capsicum annuum* L. cv. Carolina Cayenne. 1998. 56 f. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

STIRLING, G. R. Biological control of plant parasitic nematodes: Progress, problems and prospects. **CAB International**, Wallingford, 282p., 1991.

SUDRÉ, C. P.; GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; RIVA-SOUZA E. M.; BENTO, C. S. Genetic variability in domesticated *Capsicum* spp. as assessed by morphological and agronomic data in mixed statistical analysis. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 9, n.1, p. 283-294, 2010.

TAVAKOL-NORABADI, M.; SAHEBANI, N.; ETEBARIAN, H.R. Biological control of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) disease by *Pseudomonas fluorescens* (Chao). **Archive of Phytopathology and Plant Protection**, v.47, p.615–621, 2013.

TEREFE, M.; TEFERA, T.; SAKHUJA, P.K. Effect of a formulation of *Bacillus firmus* on root-knot nematode *Meloidogyne incognita* infestation and the growth of tomato plants in the greenhouse and nursery. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v.100, p.94–99, 2009.

THAN, P. P.; JEEWON, R.; HYDE, K. D.; PONGSUPASAMIT, S.; MONGKOLPORN, O.; TAYLOR, P. W. J. Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. **Plant Pathology**, Oxford, v.57(3), p.562–572, 2008.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, . 337 p. 1993.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000.

VARY P. Development of genetic engineering in *Bacillus megaterium*. **Biotechnology**, Frankfurt, v.22, p.251–310, 1992.

VAZ, M. V.; CANEDO, E. J.; VIEIRA, B. S.; LOPES, E.A. Controle biológico de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* com *Bacillus subtilis*. **Perquirere**, Pato de Minas p. 203-212. 2011.

VENZON, M., T.J. PAULA JR. & A. PALLINI. **Controle Alternativo de Pragas e Doenças**. EPAMIG / CTZM e UFV, Viçosa (MG), 358 p., 2005.

VIGGIANO, J. R.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A. Use of *Pochonia Chlamydosporia* to control *Meloidogyne javanica* in cucumber. **Biological Control**, Amsterdã, v.69, p.72-77, 2014.

VILLELA, J. C.; BARBIERI, R. L.; CASTRO, C. M.; NEITZKE, R. S.; VASCONCELOS, C. S.; CARBONARI, T.; PRIORI, D. Molecular characterization of landraces of peppers (*Capsicum baccatum*) with SSR markers. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 131-137, 2014.

XIANG, N.; LAWRENCE, K. S.; KLOEPPER, J. W.; DONALD, P. A.; MCINROY, J. A.; LAWRENCE, G. W. Biological control of *Meloidogyne incognita* by spore-forming plant growth-promoting rhizobacteria on cotton. **Plant Disease**, Saint Paul, v.101(5) p.774-84, 2017.

XU, J.; LIU, P.; MENG, Q.; LONG, H. Characterization of *Meloidogyne* species from China using isozyme phenotypes and amplified mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphism. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 110, p.309-315, 2004.

WEI, L.; SHAO, Y.; WAN J.; FENG, H.; ZHU, H.; HUANG.; ZHOU, Y. Isolation and characterization of a rhizobacterial antagonist of root-knot nematodes. **Plos One**, Online, p.1-15. 2014.

WILLERS, P. First record of *Meloidogyne mayaguensis* Rammah and Hirschmann, 1988: Heteroderidae in commercial crops in the Mpumalanga Province, South Africa. **In: ligtings bulletin Instituut vir Tropiese en Subtropiese Gewasse**, v. 294, p.19-20, 1997.

YAMAMOTO, S.; NAWATA, E. *Capsicum frutescens* L. in southeast and east Asia, and its dispersal routes into Japan. **Economic Botany**, Bronx, v. 59, n. 1, p. 18-28. 2005.

ZHOU, L.; YUEN, G.; WANG, Y.; WEI, L.; JI, G. Evaluation of bacterial biological control agents for control of root-knot nematode disease on tomato. **Crop Protection**, Guildford, v.84, p.8-13, 2016.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Genes para a resistência do gênero *Meloidogyne* spp. já identificados e seus controles.

Gene	Nematoide	Fonte
<i>N</i>	<i>M. incognita</i> , <i>M. javanica</i> , <i>M. arenaria</i>	Hare, 1957
<i>Me1</i>	<i>M. incognita</i> , <i>M. javanica</i> , <i>M. arenaria</i>	Souza-Sobrinho et al. 2002
<i>Me2</i>	<i>M. javanica</i>	Souza-Sobrinho et al. 2002
<i>Me3</i>	<i>M. incognita</i> , <i>M. javanica</i> , <i>M. arenaria</i>	Djian-Caporalino et al., 2001
<i>Me4</i>	<i>M. arenaria</i> Ain Taoujdate	Souza-Sobrinho et al. 2002
<i>Me5</i>	<i>M. arenaria</i>	Souza-Sobrinho et al. 2002
<i>Me6</i>	<i>M. javanica</i> , <i>M. arenaria</i>	Djian-Caporalino, personal communication
<i>Me7</i>	<i>M. incognita</i> , <i>M. javanica</i> , <i>M. arenaria</i>	Pegard et al., 2005
<i>Mech1</i>	<i>M. chitwood</i>	Djian-Caporalino et al., 2004
<i>Mech2</i>	<i>M. chitwood</i>	Djian-Caporalino et al., 2004

Fonte: o próprio autor.

APÊNDICE B – Identificação de 111 acessos de *Capsicum* spp. do banco de germoplasma da Universidade Estadual de Londrina.

Acesso	Procedência	Espécie	Formato	Cor
MT 71	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
MT 75	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
MT 85	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
MT 86	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
MT 107	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	cônico	vermelho
MT 108	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
MT 123	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
MT 127	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	arredondado	laranja
MT 136	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	alongado	laranja
MT 141	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	alongado	laranja
MT 144 A	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	sino	vermelho
MT 145	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
MT 148	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	biquinho	vermelho
MT 157	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
MT 158	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
MT 195	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	alongado	laranja
MT 196	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
UENF 1554	Goiás	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
UENF 1555	Goiás	<i>C. chinense</i>	arredondado	amarelo
UENF 1615	Minas Gerais	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
UENF 1703	Minas Gerais	<i>C. chinense</i>	biquinho	laranja
UENF 1706	Minas Gerais	<i>C. chinense</i>	cônico	laranja
UENF 1720	Bahia	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
UENF 1724	Bahia	<i>C. chinense</i>	cônico	laranja
UENF 1726	Bahia	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
UENF 1726 A	Bahia	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
UENF 1739	Rio de Janeiro	<i>C. chinense</i>	arredondado	laranja
UENF 1743	Pará	<i>C. chinense</i>	alongado	bege
UENF 1753	Bahia	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
UENF 1759	Pará	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
UENF 1759 A	Pará	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
UENF 1763	Pará	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
UENF 1764	Pará	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
UENF 1773	Maranhão	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
UENF 1781	Maranhão	<i>C. chinense</i>	sino	vermelho
UENF 1782	Maranhão	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
UENF 1789	Maranhão	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
UENF 1791	Maranhão	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
UENF 1804	Rio de Janeiro	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
MT 72 B	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	arredondado	laranja

Continua...

...continuação

MT 118 A	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
MT 125 A	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
MT 125 B	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
MT 149 A	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
MT 149 AB	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
MT 149 B	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
MT 149 BC	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
MT 192 B	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
MT 193 A	Mato Grosso	<i>C. chinense</i>	biquinho	vermelho
UENF 1634 A	Espirito Santo	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
UENF 1634 AB	Espirito Santo	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
UENF 1708 A	Maranhão	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
UENF 1708 B	Maranhão	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
UENF 1709 A	Maranhão	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
UENF 1709 AB	Maranhão	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
UENF 1725 A	Bahia	<i>C. chinense</i>	sino	vermelho
UENF 1744 A	Pará	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
UENF 1744 AB	Pará	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
UENF 1746 A	Pará	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
UENF 1746 B	Pará	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
UENF 1768 A	Pará	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
UENF 1768 B	Pará	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
UENF 1784 A	Maranhão	<i>C. chinense</i>	arredondado	vermelho
UENF 1798 A	Rio de Janeiro	<i>C. chinense</i>	sino	vermelho
UENF 1798 AB	Rio de Janeiro	<i>C. chinense</i>	sino	vermelho
UENF 1798 B	Rio de Janeiro	<i>C. chinense</i>	alongado	vermelho
UENF 1417	Minas Gerais	<i>C. baccatum</i>	pitanga	laranja
UENF 1490	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
UENF 1495	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	arredondado	vermelho
UENF 1500	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
UENF 1556	Goiás	<i>C. baccatum</i>	arredondado	vermelho
UENF 1573	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	arredondado	laranja
UENF 1616	Minas Gerais	<i>C. baccatum</i>	alongado	laranja
UENF 1624	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
UENF 1628	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	cônico	vermelho
UENF 1629	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	cônico	vermelho
UENF 1635	Mato Grosso	<i>C. baccatum</i>	arredondado	vermelho
UENF 1638	Minas Gerais	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
UENF 1639	Desconhecida	<i>C. baccatum</i>	cônico	vermelho
UENF 1704	Minas Gerais	<i>C. baccatum</i>	pitanga	vermelho
UENF 1705	Minas Gerais	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
UENF 1714	Peru	<i>C. baccatum</i>	biquinho	vermelho

Continua...

...continuação

UENF 1732	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	sino	vermelho
UENF 1733	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	cônico	vermelho
UENF 1737	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
UENF 1738	Minas Gerais	<i>C. baccatum</i>	biquinho	vermelho
UENF 1795c	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	alongado	preto
UENF 2056	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	arredondado	vermelho
UENF 2057	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
UENF 2060	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	biquinho	vermelho
UENF 2061	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	arredondado	vermelho
UENF 2063	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	sino	vermelho
UENF 2065c	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
UENF 2068	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	sino	vermelho
UENF 2070	Rio de Janeiro	<i>C. baccatum</i>	alongado	laranja
UENF 2081	Mato Grosso	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
UENF 2089	Mato Grosso	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
UENF 2103	Mato Grosso	<i>C. baccatum</i>	arredondado	vermelho
UENF 2104	Mato Grosso	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
UENF 2119	Mato Grosso	<i>C. baccatum</i>	arredondado	vermelho
UENF 2121	Mato Grosso	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
UENF 2125f	Mato Grosso	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
UENF 2125g	Mato Grosso	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
UENF 2132	Mato Grosso	<i>C. baccatum</i>	alongado	laranja
UENF 2143	Mato Grosso	<i>C. baccatum</i>	arredondado	vermelho
UENF 2144	Mato Grosso	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
UENF 2146	Mato Grosso	<i>C. baccatum</i>	alongado	laranja
UENF 2148	Mato Grosso	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
UENF 2149	Mato Grosso	<i>C. baccatum</i>	arredondado	vermelho
UENF 2197	Desconhecido	<i>C. baccatum</i>	alongado	vermelho
Cho	Paraná	<i>C. baccatum</i>	triangular	vermelho

Fonte: o próprio autor

APÊNDICE C – Descrição dos tratamentos utilizados para o experimento de controle biológico em *Capsicum annuum*.

Tratamento	Ingrediente ativo
T2AF	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
RE	<i>Bacillus megaterium</i>
20T	<i>Pseudomonas</i> spp.
RD	<i>Bacillus megaterium</i>
8L	<i>Pseudomonas</i> spp.
AG	<i>Bacillus pumilus</i>
RM	<i>Bacillus megaterium</i>
RI	<i>Bacillus Pumilus</i>
11L	<i>Pseudomonas</i> spp.
RA	<i>Bacillus megaterium</i>
RG	<i>Bacillus megaterium</i>
Dygs + F4	-
Veículo	-
Nemat	<i>Paecilomyces lilanus</i>
Votivo	<i>Bacillus firmus</i>
Ecotrich	<i>Trichoderma harzianum</i>
Água + nematoide	-
Sem água e sem nematoide	-

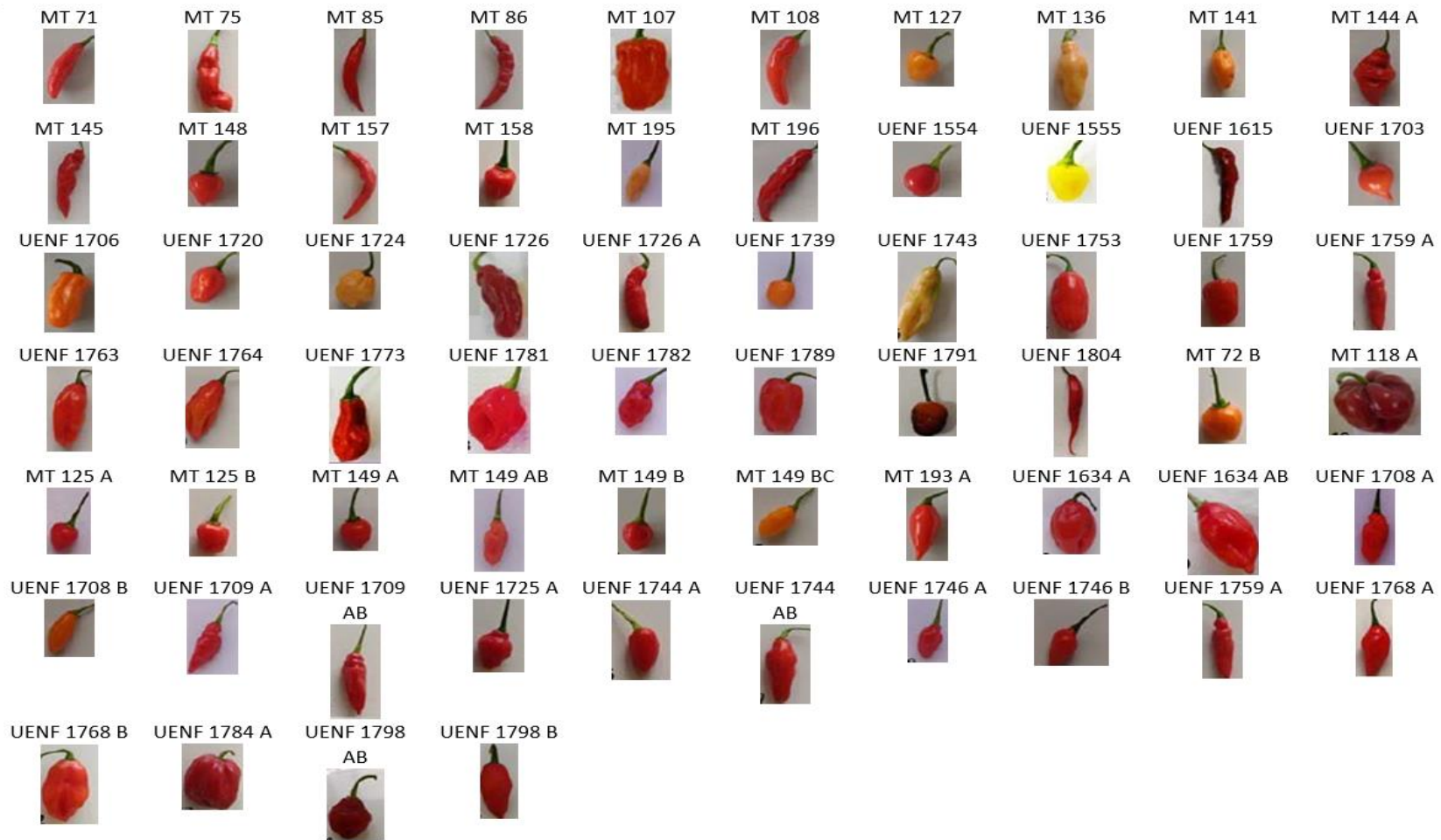
Fonte: o próprio autor

APÊNDICE D – Fotos dos acessos de *Capsicum baccatum* pertencentes ao bando de germoplasma da Universidade Estadual de Londrina.



Fonte: o próprio autor

APÊNDICE E – Fotos dos acessos de *Capsicum chinense* pertencentes ao banco de germoplasma da Universidade Estadual de Londrina.



Fonte: Aline Fabiana Paladini Moreira