



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

ADRIÉLY ALVES DE ALMEIDA

**VARIABILIDADE EM POPULAÇÕES DE *Meloidogyne incognita* E AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA EM SOJA**

---

Londrina  
2018

ADRIÉLY ALVES DE ALMEIDA

**VARIABILIDADE EM POPULAÇÕES DE *Meloidogyne incognita* E AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA EM SOJA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Agronomia

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Débora Cristina Santiago

Coorientadora: Dr<sup>a</sup>. Neucimara Rodrigues Ribeiro

Londrina  
2018

ADRIÉLY ALVES DE ALMEIDA

**VARIABILIDADE EM POPULAÇÕES DE *Meloidogyne incognita* E  
AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA EM SOJA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Agronomia

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Profa. Dra. Débora Cristina  
Santiago  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Prof. Dr. Leandro Simões Azeredo Gonçalves  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Profa. Dra. Claudia Regina Dias-Arieira  
Universidade Estadual de Maringá – UEM

---

Dr. Gaspar Malone  
GDM Genética do Brasil

---

Dra. Adriana Figueiredo  
Monsanto do Brasil

Londrina, 8 de fevereiro de 2018.

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

DE ALMEIDA, ADRIÉLY ALVES.

VARIABILIDADE EM POPULAÇÕES DE *Meloidogyne incognita* E AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA EM SOJA / ADRIÉLY ALVES DE ALMEIDA. - Londrina, 2018.  
80 f. : il.

Orientador: Débora Cristina Santiago.

Coorientador: Neucimara Rodrigues Ribeiro .

Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, , 2018.

Inclui bibliografia.

1. Nematóide-das-galhas - Tese. 2. Melhoramento Genético de Plantas - Tese. 3. Padronização de Metodologias - Tese. I. Santiago, Débora Cristina. II. , Neucimara Rodrigues Ribeiro. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. . IV. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por me conceder a vida.

Agradeço à minha orientadora Profa. Dra. Débora Cristina Santiago, pela orientação neste trabalho.

Agradeço à minha coorientadora Dra. Neucimara Rodrigues Ribeiro, por sua amizade, paciência, por seu exemplo profissional e de humanidade.

Ao Prof. Dr. Leandro Simões Azeredo Gonçalves, que contribuiu com as análises do trabalho.

Agradeço à Universidade Estadual de Londrina, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela possibilidade de realizar o curso.

Agradeço à GDM Genética do Brasil, pela parceria e disponibilização de infraestrutura necessária para a realização deste trabalho.

Aos colegas da equipe de Fitossanidade da GDM Genética do Brasil: Mayra Suemy Ishikawa, Camila Nishimura, Natalia Bravo, Janaina Netzel, Jorge Fernando, Hélio Vieira e Leonardo Fiorillo, sem os quais não teria sido possível a realização dos trabalhos.

Agradeço à minha família, que me razões para continuar acreditando nos meus objetivos. Agradeço à família do meu esposo, que me acolheu e aceitou, e que agora são também minha nova família.

Agradeço especialmente ao meu esposo, Matias Tadachi Takachi Junior, que é meu refúgio, fortaleza, porto-seguro, amor, vida. Esteve ao meu lado, em todos os momentos de choro e de incerteza, me fazendo acreditar que eu iria conseguir, e que me faz tão feliz. Obrigada Amor. Te amo, mais que tudo!

Agradeço à todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização do trabalho!

*Não vos preocupeis, pois, com o dia de  
amanhã: o dia de amanhã terá as suas  
preocupações próprias. A cada dia basta o seu  
cuidado. Mt 6, 34.*

ALMEIDA, Adriély Alves de. **Variabilidade em Populações de *Meloidogyne incognita* e Avaliação de Resistência em Soja**. 2018. 80 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

## RESUMO

*Meloidogyne incognita* é um dos principais nematoides fitoparasitas que atacam a cultura da soja, com danos que ultrapassam milhões de dólares. Entre as medidas utilizadas para seu manejo, pode-se citar a utilização de variedades resistentes. Contudo, o germoplasma da soja ainda pode ser melhor explorado na busca por fontes mais efetivas de resistência. Além disso, a padronização de metodologias e a variabilidade do patógeno são outros obstáculos a serem ultrapassados nesse processo. Assim os objetivos do presente trabalho foram avaliar a reação de genótipos de soja a *M. incognita* em diferentes níveis de inóculo e períodos, visando a seleção de resistência e caracterizar populações de *M. incognita*, de diferentes regiões e hospedeiros quanto à raça fisiológica e agressividade na cultura da soja. Os experimentos foram realizados em casa de vegetação. No primeiro trabalho, avaliou-se cinco níveis de inóculo (1000, 2000, 3000, 4000 e 5000), em três períodos de avaliação (30, 45 e 60 dias após a inoculação). Os genótipos utilizados foram Bragg, CD 201, CD 202, CD 208, MG/BR 46 Conquista, PI 595099, BRS 316 RR, Centennial e Palmeto, como padrões resistentes (R); BRS 133 e BRS/MT Pintado como padrões suscetíveis (S) e Hartwig, Pickett, Peking, TMG 115 RR, CNS, Davis e DT 2000 de comportamento não esclarecido. Avaliou-se o Índice de Galhas (IG) e Fator de Reprodução (FR). Aos 30 dias não foi possível diferenciar os genótipos de acordo com o FR, porém foi possível distingui-los pelo IG nos níveis de 4000 e 5000. Considerando ambos os parâmetros (IG e FR), o nível de 1000 nematoides por planta, tanto aos 45 como aos 60 dias após a inoculação, foi o mais adequado para diferenciar os genótipos em grupos resistente e suscetível. No segundo trabalho, 10 populações de *M. incognita* foram caracterizadas quanto à raça fisiológica, de acordo com o teste de hospedeiros da Carolina do Norte, e agressividade na soja. Os genótipos utilizados foram Bragg, Centennial, BRS 316 RR, PI 595099 (Resistentes) e DT 2000, BRS/MT Pintado e TMG 115 RR (Suscetíveis). As populações A01, A02 e A03 foram mais agressivas em todos os genótipos de soja, do que as populações A04 à A10. Foi observada a predominância de raça 3, no entanto, não houve correlação entre as raças com a agressividade observada nos genótipos de soja.

**Palavras-chave:** Melhoramento de Plantas. Nematóide de Galhas. Resistência. Agressividade.

ALMEIDA, Adriély Alves de. **Variability in *Meloidogyne incognita* Populations and Soybean Resistance Evaluation**. 2018. 80 p. Thesis (Doctorate's degree in Agronomy) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

## ABSTRACT

*Meloidogyne incognita* is one of the main plant parasitic nematode, that attack soybean crop. The damage caused by these pathogens exceeds millions of dollars. Among the management measures we can mention the use of resistant varieties. However, soybean germplasm can be better exploited in the search for more effective sources of resistance. In addition, the lack of standard methodologies and the pathogen variability are other obstacles to be overcome in the process. Thus, the objectives of this study was to define the appropriate inoculum level and evaluation periods for resistance selection in soybean, besides to characterize *M. incognita* populations from different regions and hosts as regards their physiological race and aggressiveness in the soybean crop. The experiments were conducted under greenhouse conditions. In the first study, five inoculum levels (1000, 2000, 3000, 4000 and 5000) were evaluated in three evaluation periods (30, 45 and 60 days after inoculation). The genotypes used are Bragg, CD 201, CD 202, CD 208, MG/BR 46 Conquista, PI 595099, BRS 316 RR, Centennial and Palmetto as resistant standards (R); BRS 133 and BRS/MT Pintado as susceptible (S); and Hartwig, Pickett, Peking, TMG 115 RR, CNS, Davis and DT 2000, with not defined behaviour. It was evaluated the Gall Index (GI) and Reproduction Factor (RF). At 30 days, it was not possible to differentiate the genotypes according to the RF, but it was possible to distinguish them by the GI at the levels of 4000 and 5000. Considering both parameters (GI and RF), the level of 1000 nematodes per plant, both at 45 and 60 days after inoculation, was the most adequate to differentiate the genotypes into resistant and susceptible groups. In the second study, 10 populations of *M. incognita* were characterized as the physiological race, according to the test of North Carolina hosts, and aggressiveness in soybean. The genotypes used were Bragg, Centennial, BRS 316 RR, PI 595099 (R) and DT 2000, BRS / MT Pintado and TMG 115 RR (S). Populations A01, A02 and A03 were more aggressive in all soybean genotypes than populations A04 to A10. The predominance of race 3 was observed, however, there was no correlation between the races with the aggressiveness in soybean genotypes.

**Keywords:** Plant breeding. Root-knot nematodes. Resistance. Aggressiveness.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 2.1</b> - Classificação de plantas quanto ao parasitismo de nematoides de galhas, proposto por Taylor e Sasser (1978) .....	22
<b>Tabela 2.2</b> - Classificação de genótipos proposto por Canto-Saéñz (1985), baseado no índice de galhas (IG) de Taylor e Sasser (1978) e fator de reprodução (FR) de Oostenbrink (1966) .....	22
<b>Tabela 2.3</b> - Classificação qualitativa de cultivares frente ao parasitismo de nematoides de galha, proposto por Moura e Régis (1987) .....	23
<b>Tabela 2.4</b> - Teste de hospedeiros diferenciais da Carolina do Norte, utilizado para identificar raças de <i>Meloidogyne incognita</i> , proposto por Hartman e Sasser (1985) .....	29
<b>Tabela 3.1</b> - Genótipos de soja com diferentes reações ao nematoide de galhas <i>Meloidogyne incognita</i> . Londrina, 2017 .....	38
<b>Tabela 3.2</b> - Classificação de genótipos de soja em diferentes níveis de inóculo inicial de <i>Meloidogyne incognita</i> , aos 30, 45 e 60 dias após a inoculação (DAI), baseada no Índice de Galhas (MAPA, 2010), Londrina 2017 .....	42
<b>Tabela 3.3</b> - Análise de Variância do Fator de Reprodução de <i>Meloidogyne incognita</i> em 18 genótipos de soja, em diferentes níveis de inóculo e dias após a inoculação (DAI). Londrina, 2017 .....	43
<b>Tabela 3.4</b> - Fator de Reprodução de <i>Meloidogyne incognita</i> em genótipos de soja, em diferentes níveis iniciais de inóculo e períodos de avaliação (dias após a inoculação). Londrina, 2017 .....	44
<b>Tabela 3.5</b> - Correlação entre Índice de Galha (IG) e Fator de Reprodução (FR). Londrina, 2017 .....	47
<b>Tabela 4.1</b> - Caracterização de populações e isolados de <i>Meloidogyne incognita</i> obtidas de diferentes locais e culturas. Londrina, 2017 .....	53
<b>Tabela 4.2</b> - Raças identificadas a partir de populações de <i>Meloidogyne incognita</i> , de acordo com o teste de Hospedeiros Diferenciais da Carolina do Norte (Hartman e Sasser, 1985). Londrina, 2017 .....	56

<b>Tabela 4.3</b> - Reação de cultivares de soja à populações de <i>Meloidogyne incognita</i> , de acordo com o Índice de Galhas (MAPA, 2010), onde R= Resistentes, MR= Moderadamente Resistente e S= Suscetível. Londrina, 2017 .....	57
<b>Tabela 4.4</b> - Análise de Variância para as variáveis resposta Massa Fresca de Raiz (MFR), População Final (PF) e Nematoides/g de raiz (Nem/g), de dois experimentos com a inoculação das populações (Pop) de <i>Meloidogyne incognita</i> em sete genótipos (Gen) de soja. Londrina, 2017.....	58
<b>Tabela 4.5</b> - Análise Variância (anova test) para a variável resposta Fator de Reprodução (FR), de dois experimentos, com a inoculação de populações de <i>Meloidogyne incognita</i> em sete genótipos de soja. Londrina, 2017.....	58
<b>Tabela 4.6</b> - Número de nematoides/grama de raiz das populações de <i>Meloidogyne incognita</i> em sete genótipos de soja. Londrina, 2017 .....	60
<b>Tabela 4.7</b> - População Final de <i>Meloidogyne incognita</i> em sete genótipos de soja. Londrina, 2017 .....	61
<b>Tabela 4.8</b> - Fator de Reprodução de populações de <i>Meloidogyne incognita</i> em sete genótipos de soja. Londrina, 2017.....	62

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	14
2.1	HISTÓRICO DA CULTURA DA SOJA NO BRASIL E SUA IMPORTÂNCIA ECONÔMICA.....	14
2.2	O MELHORAMENTO GENÉTICO NO DESENVOLVIMENTO DE SOJA NO BRASIL.....	15
2.3	O GÊNERO <i>MELOIDOGYNE</i> : CICLO DE VIDA E SINTOMAS NA CULTURA DA SOJA.....	16
2.4	RESISTÊNCIA GENÉTICA DE SOJA A NEMATOIDES: CONCEITOS .....	17
2.4.1	Resistência Genética de Soja a <i>Meloidogyne incognita</i> .....	18
2.5	AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA GENÉTICA DE SOJA A NEMATOIDES.....	20
2.6	VARIABILIDADE DE POPULAÇÕES DE <i>MELOIDOGYNE INCOGNITA</i> .....	16
2.6.1	Variabilidade Isoenzimática .....	27
2.6.2	Variabilidade Fisiológica .....	28
2.6.3	Citogenética.....	30
2.6.4	Genômica, Filogênia e Virulência .....	31
<b>3</b>	<b>ARTIGO A: REAÇÃO DE CULTIVARES DE SOJA A <i>Meloidogyne</i> <i>incognita</i> EM DIFERENTES NÍVEIS DE INÓCULO E PERÍODO DE AVALIAÇÃO</b> .....	35
3.1	RESUMO .....	35
3.2	ABSTRACT.....	35
3.3	INTRODUÇÃO .....	36
3.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	37
3.4.1	Genótipos .....	38
3.4.2	Instalação e delineamento experimental.....	39
3.4.3	Obtenção, quantificação e inoculação de <i>M. incognita</i> .....	39
3.4.4	Avaliações .....	39
3.4.5	Análise estatística.....	39
3.5	RESULTADOS .....	40
3.5.1	Índice de Galhas.....	40

3.5.2	Fator de Reprodução .....	43
3.6	DISCUSSÃO .....	47
3.7	CONCLUSÃO .....	49
<b>4</b>	<b>ARTIGO B: AGRESSIVIDADE DE POPULAÇÕES DE <i>Meloidogyne incognita</i> EM GENÓTIPOS DE SOJA.....</b>	<b>50</b>
4.1	RESUMO.....	50
4.2	ABSTRACT .....	50
4.3	INTRODUÇÃO .....	51
4.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	52
4.4.1	Populações de <i>Meloidogyne incognita</i> .....	52
4.4.2	Teste de Raça .....	53
4.4.3	Avaliação fenotípica em genótipos de soja.....	53
4.5	RESULTADOS .....	55
4.5.1	Viabilidade do Inóculo em Tomateiro.....	55
4.5.2	Teste de Raça .....	55
4.5.3	Índice de Galhas.....	56
4.5.4	População Final, Nematoides/g de raiz e Fator de Reprodução.....	57
4.6	DISCUSSÃO .....	64
4.7	CONCLUSÃO .....	66
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>67</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>68</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os fitonematoides são organismos de pouca mobilidade no solo e de difícil disseminação por meios próprios. Entretanto, encontram-se mundialmente distribuídos, em todas as regiões agrícolas. Uma vez estabelecidos na área, considera-se praticamente impossível sua eliminação completa, pois as espécies apresentam mecanismos de sobrevivência, tais como anidrobiose, estruturas resistentes e hospedeiros alternativos. Além disso, podem produzir muitos ovos e a população pode aumentar rapidamente, caso técnicas de controle não sejam tomadas. Considerando essas características, onde há a presença de nematoides, são necessárias medidas de manejo que, de forma integrada, podem permitir a continuidade da utilização agrícola de uma determinada área.

Entre os nematoides de galhas, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 é uma das espécies mais importantes para a cultura da soja no Brasil, e predomina em áreas cultivadas anteriormente com café e algodão (DIAS et al., 2010).

A utilização de cultivares resistentes é considerada o método de mais fácil adoção e ideal para o controle de nematoides, em culturas de escala, como a soja (SILVA, 2001). De forma geral, existe disponibilidade de fontes de resistência para esses nematoides no germoplasma da soja (SILVA, 2001), e o *Rmi1* é o principal gene identificado no QTL conferindo resistência a *M. incognita* no mapa genético da soja. Dessa forma, o desenvolvimento de novas cultivares tem sido restrito à inclusão e seleção desse gene. Contudo, a pressão imposta pelo uso contínuo da mesma fonte de resistência pode levar a seleção de populações mais agressivas.

A resistência para nematoides é definida pela capacidade de uma planta em suprimir o desenvolvimento ou reprodução do mesmo (COOK; EVANS, 1987). Em soja, existe um gradiente de respostas com genótipos intermediários entre os extremos (SILVA, 2001). A planta pode ainda apresentar tolerância, que é a capacidade da planta de manter a capacidade produtiva, mesmo quando infectada pelo patógeno, e é também independente da resistência. Assim, plantas intolerantes, podem apresentar baixo Índice de Galhas (IG) e, no entanto, não ser resistente,

assim como plantas tolerantes podem apresentar muitas galhas, mas ainda manter a capacidade de produção.

Na avaliação de resistência, o IG, que é atribuído pela intensidade do sintoma na raiz da planta, tem sido utilizado na caracterização e seleção de materiais resistentes para *Meloidogyne* sp., pois esse índice é relativamente rápido quando um grande número de materiais precisa ser avaliado. Contudo, por diferentes fatores, principalmente efeitos ambientais, a correlação entre o IG e reprodução do nematoide pode ser afetada, resultando em avaliações contraditórias. E ainda, a falta de padronização de metodologias, incluindo níveis de inóculo, época de avaliação e forma de condução do trabalho, podem contribuir para que ocorra divergências. Há de se considerar ainda, a variabilidade do próprio patógeno. *M. incognita*, embora se reproduza por partenogênese mitótica, apresenta raças fisiológicas, com preferências por hospedeiros diferenciais (HARTMAN; SASSER., 1985). Variabilidade cromossômica também já foi bem relatada na espécie (TRANTAPHYLLOU, 1985), além de padrões atípicos para a enzima  $\alpha$ -esterase.

Nesse contexto, foram conduzidos trabalhos com os seguintes objetivos: estudar a reação de genótipos de soja em diferentes níveis de inóculo de *M. incognita* e, assim esclarecer os níveis mais adequados para seleção de materiais utilizando-se o índice de galhas e fator de reprodução; caracterizar a agressividade de populações de *M. incognita* em genótipos de soja; identificar a raça fisiológica do nematoide em cada população; verificar a existência de correlação entre a característica das populações com a agressividade das mesmas.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 HISTORICO DA CULTURA DA SOJA NO BRASIL E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

A primeira referência sobre soja no Brasil data de 1882, na qual, um artigo publicado no Jornal do Agricultor, relatou seu cultivo no Estado da Bahia (MEDINA, 1981). No início do século XX, imigrantes japoneses introduziram a soja em São Paulo. Em 1914 foi inserida no Rio Grande do Sul (BONETTI, 1981), onde a cultura encontrou efetivas condições para se desenvolver e expandir, devido as semelhanças climáticas do ecossistema de origem (Sul dos Estados Unidos) dos materiais genéticos existentes no país, com as condições climáticas predominantes no extremo sul do Brasil (EMBRAPA, 2003).

O cultivo da soja no Paraná se desenvolveu após os efeitos das grandes geadas da década de 50 sobre os cafezais, em diferentes circunstâncias, a cultura então se expandiu em todo o estado (KASTER et al., 1981). Com a expansão da cultura para novas áreas, houve a necessidade de desenvolvimento de cultivares que fossem adaptadas às diferentes regiões brasileiras (BONETTI, 1981). Foi a partir da década de 60, quando iniciou-se o cultivo sucessivo trigo-soja no Rio Grande do Sul e o incentivo governamental à produção de trigo, que houve também incremento na área de produção de soja (BONETTI, 1981).

A cultura da soja corresponde a 49% da área plantada com grãos no país. Cultivada especialmente nas regiões Centro Oeste e Sul, se firmou como um dos produtos mais destacados da agricultura nacional e na balança comercial. A indústria nacional transforma, por ano, cerca de 30,7 milhões de toneladas de soja, produzindo 5,8 milhões de toneladas de óleo comestível e 23,5 milhões de toneladas de farelo proteico, contribuindo para a competitividade nacional na produção de carnes, ovos e leite. Além disso, a soja e o farelo de soja brasileiros possuem alto teor de proteína e padrão de qualidade, o que permite sua entrada em mercados extremamente exigentes, como os da União Europeia e do Japão, e se constitui em alternativa para a fabricação do biodiesel (BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2016).

O complexo soja tem um importante papel na economia brasileira, gerando empregos e crescimento de setores envolvidos com seu sistema de produção. Uma pesquisa do Índice de Desenvolvimento Humano (IDH), realizada pelo Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD), revelou aumento da qualidade de vida nos municípios em que a soja impulsiona a economia (ABIOVE, 2016).

Um resumo da safra mundial de soja 2017/18, baseado no 9º Levantamento do USDA, prevê uma produção mundial de 348,6 milhões de toneladas. O Brasil se classifica como o primeiro maior exportador (67 milhões t), segundo produtor (110 milhões de t) e estocador do grão (22,4 milhões de t) e quarto maior consumidor (45,7 milhões de t). A China segue como o maior consumidor. O consumo global cresce a 10 anos de forma ininterrupta, registrando em 2017/18 um novo recorde (FIESP, 2018).

## 2.2 O MELHORAMENTO GENÉTICO NO DESENVOLVIMENTO DA SOJA NO BRASIL

Os esforços no melhoramento genético deram suporte ao acentuado crescimento da produção de soja alcançado no Brasil, principalmente por duas grandes contribuições (CALVO; KIIHL, 2006). A primeira, foi a adaptação da soja às baixas latitudes, por meio da introdução de genes para o “período juvenil longo” do germoplasma brasileiro e a segunda foi o incremento de resistência às doenças (CALVO; KIIHL, 2006).

A soja é considerada como planta de dias curtos (noites longas); por isso grande parte da área mundial cultivada com essa cultura está localizada em latitudes maiores que 30º, onde prevalecem condições de clima temperado (ALMEIDA et al., 1999). O Brasil representa uma exceção dentro desse contexto. Nas décadas passadas, com a expansão da cultura em grandes áreas dos Cerrados, o processo produtivo agrícola com a soja ocorreu predominantemente em regiões de climas tropical e subtropical (ALMEIDA et al., 1999). Essa expansão foi muito facilitada pelo desenvolvimento de cultivares melhoradas e adaptadas inclusive para zonas equatoriais (ALMEIDA et al., 1999). As regiões situadas em latitudes menores que 10º representam área de expansão da soja, especialmente nos estados do Maranhão, Piauí, Tocantins e Pará (CALVO; KIIHL, 2006).

A segunda grande contribuição do melhoramento da soja foi o incremento da resistência às doenças mais expressivas na cultura, como a pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycineea*), a mancha olho-de-rã (*Cercospora sojina*), o cancro-da-haste (*Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*), o nematoide de cisto (*Heterodera glycines* Ichinohe, 1952), o nematoide de galha (*Meloidogyne incognita*) e o mosaico comum (*Soybean Mosaic Virus*). Em consequência, até o final da década de 90, quando surgiu a ferrugem asiática da soja, era comum o cultivo de lavouras no país sem o uso de fungicidas (CALVO; KIIHL, 2006).

### 2.3 O GÊNERO *MELOIDOGYNE*: CICLO DE VIDA E SINTOMAS NA CULTURA DA SOJA

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* se destacam entre os patógenos mais importantes em plantas cultivadas, por serem cosmopolitas, podendo ser encontrados em quase todos os países do mundo. Devido a percepção por parte de pesquisadores de que as espécies do gênero começaram a se sobressair como importantes parasitas de plantas, em 1975, foi criado o International *Meloidogyne* Project (IMP), pelo prof. J. N. Sasser, da Universidade de Carolina do Norte, com o apoio do United States Department of Agriculture (USDA) (MOURA, 1996). O IMP, de amplitude mundial, proporcionou o conhecimento mais detalhado e mais amplo sobre distribuição geográfica, comportamento parasitário, genética, morfologia, bioquímica e outros aspectos relativos às diferentes espécies e raças do gênero *Meloidogyne* (MOURA, 1996).

Observou-se diferenças no modo reprodutivo, que incluem partenogênese mitótica ou meiótica, até anfimixia. Apesar de haver diferenças entre as formas preferenciais de reprodução neste gênero, as condições ambientais são fatores de grande importância na determinação do ciclo de vida das espécies, bem como no seu comportamento reprodutivo (CASTAGNONE-SERENO, 2002; CASTAGNONE-SERENO et al., 2013). De modo geral, sob temperatura de 27°C o ciclo se completa em 25 dias, mas pode se tornar mais longo em temperaturas mais elevadas ou inferiores (AGRIOS, 1988).

O nematoide passa a maior parte do ciclo no interior das raízes das plantas, alimentando-se de células modificadas (WILLIAMSON; HUSSEY, 1996). As fêmeas sexualmente maduras são globosas, branco-leitosas, tornando-se

endoparasitas sedentárias (FERRAZ; MONTEIRO, 2011) e cada uma delas produz, em média 500 ovos (FERRAZ; MENDES, 1992), em um típico aglomerado ou massa envolvida por substância gelatinosa. No interior destes ovos encontram-se juvenis de 1º estágio (J1), que logo passam pela primeira ecdise originando os juvenis de segundo estágio (J2). Após eclodirem, os J2 migram no solo à procura de raízes de um hospedeiro favorável (FERRAZ; MONTEIRO, 2011). Penetrando em radícula de planta suscetível, o nematoide movimenta-se intercelularmente pelo córtex, até a região do cilindro vascular, onde estabelece um sítio de alimentação com a formação de células nutridoras e o juvenil mostra-se gradualmente mais robusto, salsichoide, passando pelos estádios J3 e J4, até chegar à fase adulta novamente (FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

Em soja, as plantas parasitadas por *M. incognita* caracterizam-se pela presença de grande número de galhas radiculares, tanto nas raízes secundárias, como na raiz pivotante, o que não é comum nas meloidoginoses, porém é bastante frequente no caso da soja e, em razão disso, nas infecções mais severas, o sistema radicular pode ficar muito atrofiado (FERRAZ, 2001). No interior dessas raízes é possível encontrar tanto juvenis em desenvolvimento como fêmeas com massas de ovos em número muito elevados (FERRAZ, 2001). Plantas de soja infectadas por nematoides de galhas apresentam sintomas na parte aérea caracterizados por variados graus de subdesenvolvimento, amarelecimento e a tendência de murchar em condições de deficiência hídrica durante períodos de altas temperaturas e clima seco (ASMUS, 2001).

#### 2.4 RESISTÊNCIA GENÉTICA DE SOJA À NEMATOIDES: CONCEITOS

O emprego de variedades resistentes é o método ideal de controle, por ser aplicável em grandes áreas e possuir baixo impacto ambiental comparado à utilização de agrotóxicos (CAMARGO, 2011). A resistência de plantas em esquemas de manejo de fitonematoides pode proporcionar vantagens específicas, incluindo suprimir a reprodução do nematoide, diminuir o tempo de rotação de culturas e uso de agrotóxicos, não requerer equipamentos especiais para utilização e tem custo similar ao de cultivares suscetíveis (BOERMA; HUSSEY, 1992).

As plantas também podem ser imunes aos nematoides, não sendo danificadas por eles (ROBERTS, 2001). Essa condição da planta leva à

incapacidade do nematoide de desenvolver-se e reproduzir-se no interior de seus tecidos, frequentemente por mecanismos que se manifestam já no início da penetração, inibindo-a ou mesmo impedindo que ela ocorra (ROBERTS, 2001).

A resistência é usada para descrever a capacidade de uma planta em suprimir o desenvolvimento ou a reprodução do nematoide, que na prática, é um conceito relativo, derivado da comparação entre genótipos e, frequentemente, inclui uma indicação de níveis de resistência dentro das interações planta-nematoide. Uma planta completa ou altamente resistente permite pequena ou nenhuma reprodução do nematoide. Enquanto uma planta parcialmente ou moderadamente resistente permite valores intermediários de reprodução. A suscetibilidade é, portanto, o inverso da resistência; assim uma planta suscetível permite o desenvolvimento normal e abundante do nematoide e a expressão da doença associada (COOK; EVANS, 1987). Em soja, existe um gradiente em relação a essas duas características, com genótipos apresentando reações intermediárias (moderadas) entre os extremos (SILVA, 2001).

Tolerância é o termo utilizado para descrever a capacidade da planta produzir, mesmo infectada pelo nematoide (ROBERTS, 2001). Uma planta tolerante apresenta pouca ou nenhuma supressão do rendimento até quando fortemente infectada com nematoides (ROBERTS, 2001). Plantas intolerantes, por sua vez, sofrem danos severos em uma planta similarmente infectada (HUSSEY; BOERMA, 1981). Os atributos de resistência e tolerância são independentes e podem ser herdados de maneira separada e diferenciada. Sendo assim, uma planta pode ser resistente e tolerante/intolerante, e ser suscetível e tolerante/intolerante (HUSSEY; BOERMA, 1981).

#### 2.4.1 Resistência Genética de Soja a *Meloidogyne incognita*

De maneira geral, a base genética da soja no Brasil é muito estreita (WYSMIERSKI, 2010). Em se tratando de resistência a nematoides, existe disponibilidade de fontes em seu germoplasma, entretanto, poucas delas foram satisfatoriamente estudadas (SILVA, 2001). A base genética da resistência a nematoides do gênero *Meloidogyne* presente nas cultivares em uso, até então, é muito restrita (SILVA, 2001). Cultivares de soja com níveis variados de resistência aos nematoides das galhas estão disponíveis no país e quase todas descendem de

uma única fonte de resistência, que é a cultivar norte-americana Bragg (DIAS et al., 2010; MIRANDA et al., 2011).

Esta cultivar foi originada do cruzamento de Jackson x D49-2491 (HA et al., 2004), no qual, Jackson contribuiu com os genes de resistência, que por sua vez, descende de Palmeto x Volstate, ambos com resistência a *M. javanica*, (Treub, 1885) Chitwood, 1949, *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 e *M. incognita* (SILVA, 2001). A cultivar Bragg foi especialmente aceita pelos produtores de soja do sul do país (SILVA, 2001). No entanto, após o surgimento do cancro da haste no Brasil, doença fúngica a qual se mostrou suscetível, a cultivar não foi mais plantada (SILVA, 2001). Entretanto, foi muito utilizada em diversos programas de melhoramento genético de soja no país, e gerou alguns descendentes, como MG/BR 46 Conquista e Coodetec 201 (SILVA, 2001). Algumas cultivares de soja, utilizadas em programas de melhoramento dos EUA, como fonte de resistência ao nematoide do cisto da soja (NCS), também, possuem resistência a espécies de *Meloidogyne*, como no caso da Centennial, resistente a raça 1 do NCS, e também a *M. incognita* (SILVA, 2001).

A herança da resistência da soja para *M. incognita* foi determinada por um cruzamento de Bossier (suscetível) x Forrest (resistente), as gerações F1, F2 e F3 foram estudadas, e tanto as populações F2 quanto a F3 segregaram-se em classes resistentes, intermediárias e suscetíveis numa proporção 1:2:1 (LUZZI et al., 1994). Baixas variações intrafamiliares indicaram que as classes resistente e suscetível na F3 foram derivadas de plantas F2 homocigóticas; e as altas variâncias na classe intermediária indicam que estas foram derivadas de plantas heterocigóticas (LUZZI et al., 1994). Os autores concluíram que Forrest possuía um único gene aditivo para resistência à formação de galhas, designado *Rmi1*.

Estudando a herança da resistência para *M. incognita* na cultivar CD 201, Oliveira et al. (2015) sugeriram que a resistência presente na cultivar é dada por três genes aditivos (dois dominantes e um recessivo) e epistáticos, o que significa que todos os três genes são necessários para a resistência completa. Além disso, que dois genes conferem resistência moderada, e plantas com um gene são moderadamente suscetíveis, e que a classe S não teria genes de resistência. Esses mesmos autores, utilizando o marcador molecular Satt358, confirmaram a associação da resistência ao nematoide na CD 201, com o gene *Rmi1*, no grupo de ligação O do mapa genético da soja.

A partir de um estudo do maior QTL condicionando resistência para *M. incognita*, conclui-se que há duas fontes ancestrais de resistência nas cultivares elite de soja do sul dos Estados Unidos, Palmeto e FC 33243, sugerindo que Palmeto seria, provavelmente, o doador do gene de resistência *Rmi1*, encontrado na maioria das cultivares elites dos grupos de maturação V, VI, VII e VIII (HA et al., 2004).

Outras fontes de resistência foram buscadas na coleção do germoplasma de soja do sul do Estados Unidos, e a PI 96354 foi identificada com o maior nível de resistência a *M. incognita*, reduzindo tanto a formação de galhas, como a reprodução dos nematoides (LUZZI et al., 1987; TAMULONIS et al., 1997). Utilizando esta mesma PI, mostrou-se que ao parasitar suas raízes, juvenis de segundo estágio (J2) de *M. incognita* apresentaram menor taxa de desenvolvimento e produziram 99% menos ovos por massa de ovos do que as fêmeas em Forrest ou Bossier (MOURA et al., 1993). Herman et al. (1991) também observaram que a migração diferencial dos J2 foi responsável pelo baixo número de nematoides nas raízes de PI96354. Segundo Tamulonis et al. (1997), a PI 96354 possui genes que conferem uma resistência quase completa a *M. incognita*, e poderia proporcionar um nível de resistência mais elevado do que o conhecido até então.

Mais recentemente, Pham et al. (2013) identificaram que dois QTLs condicionam a resistência em PI 96354, um QTL principal e um menor no cromossomo 10 e 18, respectivamente. A análise de genes candidatos identificou quatro genes com função de modificação de parede celular. Por meio de PCR em tempo real, observaram diferença significativa nos níveis de expressão destes quatro genes entre Bossier e PI 96354, que podem ser responsáveis pelo elevado nível de resistência desse genótipo.

Três QTLs subjacentes à resistência ao nematoide de galhas, também, foram identificados nos cromossomos 8, 10 e 13 da PI 438489B (Xu et al., 2013). Vinte e quatro, entre 120 PIs avaliadas por Lee et al. (2015), mostraram resistência concomitante para nematoides de galhas, a *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940 e a pelo menos uma raça do nematoide do cisto da soja.

Altos níveis de variabilidade são a regra quando são consideradas as interações nematoide-planta e, portanto, a variação genética e patogênica do nematoide deve ser considerada para uma avaliação realista da durabilidade de novos genes de resistência de plantas à medida que são disponibilizados

(CASTAGNONE-SERENO, 2002). Recomenda-se, dessa forma, a avaliação preliminar de qualquer novo material resistente, antes de sua liberação comercial, testando uma grande coleção de nematoides isolados, para reduzir, tanto quanto possível, o risco de quebra rápida do gene de resistência (CASTAGNONE-SERENO, 2002).

## 2.5 AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA GENÉTICA DE SOJA A NEMATOIDES

Segundo Mendes e Rodriguez (2000), a avaliação de genótipos de soja visando identificar fontes de resistência a *Meloidogyne* spp. tem resultado em informações contraditórias, que podem ser atribuídas à dificuldade de se utilizar metodologias mais práticas na avaliação da resistência para um grande número de linhagens. Entre as explicações para alguns resultados conflitantes da literatura está na utilização de diferentes critérios de avaliação (RIBEIRO, 2005).

O protocolo de seleção utilizado para identificar linhagens resistentes, inicialmente, deve possibilitar avaliar rapidamente e com confiabilidade muitos genótipos. Embora seja importante a avaliação de linhagens em campos naturalmente infestados, há algumas desvantagens, como a desuniformidade de infestação do nematoide, restrições sazonais, e comunidades poliespecíficas, que são mais regras que exceção em países tropicais. Já em casa de vegetação, é possível a realização de testes ao longo de todo o ano, além da padronização do nível, distribuição e pureza do inóculo (BOERMA; HUSSEY, 1992).

Metodologias para a avaliação de resistência de plantas frente a importantes espécies de nematoides estão disponíveis, tanto para campo como casa de vegetação (HUSSEY; JANSSEN, 2001), e segundo Canto-Sáenz (1985), para uma completa avaliação da resposta da planta para os nematoides, dois parâmetros devem ser mensurados: a reprodução do nematoide e o dano por ele causado.

A reprodução do nematoide pode ser feita com base na contagem dos ovos, juvenis e adultos extraídos do sistema radicular, da planta e do substrato (conforme o gênero envolvido), para o cálculo do Fator de Reprodução (FR). O FR é obtido através da divisão da população final (contada), pela população inicial (inoculada) do nematoide em cada planta, em que  $FR \geq 1$  indica que a planta é hospedeira favorável (suscetível),  $FR < 1$  que a planta é resistente (OOSTEBRINK, 1966) e  $FR = zero$ , imune.

Para Taylor e Sasser (1978), a classificação da reação das plantas é realizada com base na contagem do número de galhas ou massas de ovos, atribuindo-se notas que variam de 0 a 5 (Tabela 2.1). E, segundo o critério de Canto-Saénz (1985), a avaliação é feita com base em dois critérios, o Índice de Galhas (IG) e o FR (Tabela 2.2).

Moura e Régis (1987) propuseram a avaliação de genótipos quanto à resistência ou suscetibilidade para meloidoginose no feijoeiro, baseada na redução do índice de reprodução do nematoide, comparando-se com a cultivar mais suscetível disponível. Nesse caso, a cultivar que apresentar maior FR será considerada como padrão de suscetibilidade. O FR das demais cultivares deve ser comparado com o padrão suscetível para obter o percentual de redução de cada um (Tabela 2.3).

**Tabela 2.1** - Classificação de plantas quanto ao parasitismo de nematoides de galhas, proposto por Taylor e Sasser (1978).

Índice	Nº de galhas e/ou massas de ovos
0	0
1	1 – 2
2	3 – 10
3	11 - 30
4	31 - 100
5	> 100

**Tabela 2.2** - Classificação de genótipos proposto por Canto-Saénz (1985), baseado no índice de galhas (IG) de Taylor e Sasser (1978) e fator de reprodução (FR) de Oostenbrink (1966).

Reação	IG e FR
Hipersuscetíveis	$IG > 2$ e $FR \leq 1$
Suscetíveis	$IG > 2$ e $FR > 1$
Tolerantes	$IG \leq 2$ e $FR > 1$
Resistentes	$IG \leq 2$ e $FR \leq 1$
Imunes	$IG = 0$ e $FR =$

**Tabela 2.3** - Classificação qualitativa de cultivares frente ao parasitismo de nematoides de galha, proposto por Moura e Régis (1987).

% de Redução do FR	Classificação
0 – 25	Altamente Suscetível (AS)
26 – 50	Suscetível (S)
51 – 75	Pouco Resistente (PR)
76 – 95	Moderadamente Resistente (MR)
96 – 99	Resistente (R)
100	Altamente Resistente (AR) ou Imune (I)

De acordo com o protocolo proposto pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a avaliação deve ser visual, feita com base em notas de 0 a 5, de acordo com a intensidade de galhas no sistema radicular, no qual zero, significa a ausência de galhas e 5 a intensidade máxima. Cultivares com nota média até 1 são taxadas como resistentes, de 1 a 2 como moderadamente resistentes, e acima de 2 como suscetíveis. Foi também proposta a inclusão de variedades de soja como padrões. Ao avaliar a resistência de linhagens deve-se usar como padrão de resistência (R) pelo menos alguns dos genótipos: PI 595099, CD 201, CD 202 e MG/BR 46 Conquista. Como padrão suscetível (S) foi proposto utilizar BRS Celeste, Santa Rosa, BRS/MT Pintado, BRS 133 e Embrapa 20, e na atribuição das notas deve-se sempre considerar o comportamento dos padrões R e S (BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2010).

Os programas de melhoramento genético de soja, em função do número de linhagens a serem testadas ser muito grande, geralmente, são selecionados os materiais resistentes à *Meloidogyne* spp. com base apenas no índice de galhas (IG). Isso se justifica pelo fato de o IG ser o parâmetro de mais fácil determinação e que permite avaliar rapidamente um grande número de linhagens (DIAS et al., 2010). Contudo, segundo Luzzi et al. (1987), a utilização do FR é útil para linhagens avançadas, que dará uma melhor indicação da resistência ao nematoide do que o IG.

No geral, para a soja, há correlação positiva entre o número de galhas e a suscetibilidade de plantas (KINLOCH, 1990; YOUNG, 1998), no entanto, podem haver exceções. Dias et al. (2010), avaliando a reação de genótipos de soja aos

nematoides *M. ethiopica* e *M. enterolobii*, verificaram que as cultivares BRS 213, BRS-Corisco e OCEPAR-4 Iguaçu apresentaram IG altos e FR relativamente baixos, enquanto com MG/BR 46 Conquista ocorreu o oposto, ou seja, IG baixo e FR relativamente altos. A falta de correlação entre essas variáveis também já foi observada para *M. incognita* (LUZZI et al., 1987) e *M. javanica* (MENDES et al., 2001).

Essa falta de correlação pode ser por vários motivos, entre eles está o fato de que algumas plantas não apresentam a formação de galhas (DROPKIN; WEBB, 1967; FASSUOLITIS et al., 1970), ou as galhas podem ser pequenas e/ou em número reduzido (MCCLURE, 1974), em outras situações a formação de galhas e massas de ovos podem demorar mais a aparecer, e uma massa de ovos pode conter desde poucos até mais de dois mil ovos (LORDELLO, 1982). Além disso, nem sempre a formação de galha indica o desenvolvimento bem sucedido do nematoide. Cultivares resistentes, no geral, são atacadas por número semelhante de nematoides que as não resistentes, ou seja, a resistência, salvo casos excepcionais, não protege a planta da invasão pelo nematoide e dos danos decorrentes desse processo (TRUDGILL, 1991), contudo dentro da raiz a indução do sítio de alimentação é inibida, ou mesmo sendo inicialmente estabelecidas as estruturas de alimentação, estas são desintegradas nos estágios iniciais de desenvolvimento do nematoide (JUNG; WYSS, 1999).

Além disso, o desenvolvimento, a reprodução do nematoide e a expressão dos sintomas em determinado material são extremamente dependentes de fatores ambientais. Ainda que a condução de ensaios em casa de vegetação minimize esses efeitos, eles não são eliminados completamente.

A temperatura é um dos mais importantes fatores que afetam a resposta da planta a *M. incognita* (CANTO-SAÉNZ, 1985). Ela afeta a sobrevivência de nematoides, distribuição, embriogênese e incubação, migração e penetração, desenvolvimento e expressão dos sintomas na planta (CANTO-SAÉNZ, 1985). Altas temperaturas podem influenciar a expressão de genes de resistência, fazendo com que plantas comportem-se como suscetíveis, provavelmente, devido a três fatores: i) altas temperaturas são as condições ótimas para a atividade do nematoide; ii) estresse causado por alta temperatura torna as plantas mais vulneráveis ao ataque de nematoides; e iii) produtos químicos, responsáveis pela reação de

hipersensibilidade da planta, podem não ser produzidos ou podem ser neutralizados em temperatura elevada (CANTO-SAÉNZ, 1985).

Campos et al. (2011) mostraram que a capacidade reprodutiva de fêmeas de *M. javanica*, em cultivares de soja, medida pelo número de massas de ovos e total de ovos, foi significativamente maior a 28°C do que em temperaturas menores. Em solo aquecido a reprodutividade de *M. incognita*, inoculado em tomateiro, foi maior do que o cultivo em sala climatizada ou casa de vegetação (ALVES; CAMPOS, 2001).

A idade da planta quando inoculada pode, também, interferir na sua resposta. Em cultivar suscetível de milho, a reprodução de *M. javanica* foi maior quando a plântula foi inoculada aos 11 dias após a emergência, do que as idades de 2, 4, 6, 8 ou 15 dias. Almeida et al. (2016), também, concluíram que mudas de *Crotalaria ochroleuca* apresentaram maior número de fêmeas de *Heterodera glycines* quando mudas foram inoculadas com 21 dias, do que mudas de 7, 14 ou 28 dias. Plantas mais velhas têm mais tecidos já diferenciados que o nematoide geralmente não penetra (CANTO-SAÉNZ, 1985). Assim, o crescimento da raiz mais velha permanece intacto (JAFFE; MAI, 1979). Os sistemas radiculares escassos de plantas mais jovens na época da inoculação causam uma concentração de juvenis em torno das pontas das raízes (CANTO-SAÉNZ, 1985). Quando esta situação ocorre, o crescimento na ponta da raiz pode parar, o que resulta na redução do seu tamanho (CANTO-SAÉNZ, 1985).

Deve-se, ainda, considerar a quantidade de inóculo admitida para cada planta, e o recipiente utilizado. Antonio e Dall'Agnol (1982), observaram que a formação de galhas em cultivar resistente (Forrest) não é afetada nem por níveis de inóculo, nem pelo tamanho de vaso, já na cultivar suscetível Bossier, o grau de infecção foi significativamente maior em vasos pequenos, do que em vasos grandes, e o nível de inóculo de 10000 nematoides foi o nível mais adequado segundo os autores, pois níveis maiores não induziram a formação de galhas, e entre os menores níveis, 10000 foi o que teve maior IG. Santos (2012), por sua vez, não observou diferença na multiplicação de *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey, 1929) Filipjev & S. Stekhoven, 1941 na cultura da soja, em função de diferentes tamanhos de vasos. O método de inoculação, seja por dispersão no solo ou concentrado junto a raiz, também, influenciou a resposta da cultivar suscetível Bossier, onde o inóculo

concentrado induziu a formação de mais galhas do que o inóculo disperso no solo (ANTONIO; DALL'AGNOL, 1984).

Ainda sobre nível de inóculo, Andreazi et al. (2015) observaram que o fator de reprodução de *M. paranaensis* Carneiro, Carneiro, Abrantes, Santos & Almeida, 1996 em cultivares de cafeeiro apresentou correlação negativa com o nível de inóculo (ANDREAZI et al., 2015). Luzzi et al. (1987) verificaram que o nível de 5000 nematoides permitiu separar as cultivares com resistência, e o de 10000 nematoides resultou em genótipos com IG menores que o padrão resistente, este comportamento se deve à pressão exercida pelo alto nível de inóculo, e a falta de espaço vital para a multiplicação de todos os nematoides inoculados. Kankam e Adomako (2014), observaram que o aumento do nível de inóculo de 0 a 2000 nematoides resultou em aumento correspondente do número de galhas e da população do nematoide em tomateiro. Sera et al. (2009), avaliaram a resistência de café Tupi e IPR 100, em diferentes níveis de inóculo e observaram que até o nível de 1000 nematoides as cultivares apresentaram resistência moderada, e nos níveis de 1500 a 2000 foram classificadas como suscetíveis.

O número de ovos de nematoides para usar como inóculo dependerá, então, do tamanho do recipiente em que as plantas serão cultivadas, da adequação da espécie de planta como hospedeira para o nematoide, condições ambientais, e possibilidade de outros fatores (HUSSEY; BOERMA, 1981). Por estas razões sempre será necessário conduzir testes preliminares para determinar a concentração ótima de inóculo para cada combinação de hospedeiro-nematoide (HUSSEY; BOERMA, 1981).

Para minimizar os problemas que podem ocorrer na avaliação de resistência, o ideal seria utilizar mais de um parâmetro, como o índice de galhas e/ou de massas de ovos, número de ovos por grama de raiz e fator de reprodução. Em fases posteriores do desenvolvimento de cultivares, as linhagens deveriam ser testadas em maior escala, com repetições em diferentes áreas de campo, para tentar abranger a maior variabilidade possível do nematoide e, também, definir o rendimento potencial, em áreas infestadas com espécies de *Meloidogyne* (KINLOCH; HINSON, 1972).

## 2.6 VARIABILIDADE DE POPULAÇÕES DE *MELOIDOGYNE INCOGNITA*

Os estudos realizados durante o Projeto Internacional *Meloidogyne* mostraram que *M. incognita* foi a espécie predominante entre as populações estudadas. Do total, 298 populações (54%) foram identificadas como *M. incognita*. Essa espécie é considerada como sendo, economicamente, a mais importante (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991), de maior ocorrência nos países tropicais por causa da temperatura e umidade adequadas para seu desenvolvimento, além da vasta gama de hospedeiros (KARSSSEN; MOENS, 2006).

O extremo sucesso parasitário de *M. incognita* constitui um paradoxo evolutivo, pois este é um organismo ameiótico de reprodução clonal, o que de acordo com teorias evolucionistas, é um tipo de dispersão genética capaz de levar qualquer espécie à extinção. No entanto, possivelmente este seja o patógeno mais nocivo para as culturas em todo o mundo (TRUDGILL; BLOK, 2001). Embora seja associada a baixa variabilidade genética, a partenogênese oferece vantagens em colonização, pois não há necessidade de cruzamento entre o macho e fêmea, o que é especialmente importante no caso de fitonematoides, que tem baixa mobilidade no solo (CASTAGNONE-SERENO, 2002). Variabilidade genética e fenotípica são observadas em populações de *M. incognita*, pela ocorrência de quatro raças fisiológicas, segundo a descrição do teste de hospedeiros diferenciais da Carolina do Norte (HARTMAN; SASSER, 1985). Também foi encontrada diversidade cromossômica no gênero (TRIANANTAPHYLLOU, 1985) e diferentes fenótipos para isoenzima  $\alpha$ -esterase (SANTOS et. al., 2012; CASTRO; LIMA; CARNEIRO, 2003; COFCEWICZ et. al., 2004).

A medida que o conhecimento sobre a diversidade de nematoides se alarga, o uso de fontes de resistência atualmente conhecidas pode ser de valor limitado. Assim, elucidar os determinantes moleculares da virulência dos nematoides é um desafio importante para o desenvolvimento e implementação futura de cultivares resistentes (duráveis) (CASTAGNONE-SERENO, 2002). No que se refere aos mecanismos moleculares da variabilidade genética, é necessário conhecimento adicional, especialmente no caso dos nematoides partenogênicos (CASTAGNONE-SERENO, 2002).

### 2.6.1 Variabilidade Isoenzimática

Dentre as isoenzimas estudadas, as esterases são as mais utilizadas na identificação de espécies de *Meloidogyne*, com mais de 40 fenótipos descritos (BLOK; POWERS, 2009). A mobilidade das isoenzimas em gel de acrilamida, sob corrente elétrica, varia de acordo com suas cargas elétricas e pesos moleculares, levando à visualização de bandas em diferentes posições no gel, as quais são específicas para a maior parte das espécies de *Meloidogyne* (CARNEIRO et al., 2000; BLOK; POWERS, 2009). Segundo Carneiro et al. (2005), os perfis de esterase de *M. incognita* mais comuns foram descritos e denominados I1 e I2, por Pais e Abrantes (1989), e Carneiro et al. (2002, 2004).

Populações de *Meloidogyne* spp. foram coletadas em regiões brasileiras produtoras de soja e estudadas quanto aos seus perfis eletroforéticos. Destas, quatro populações apresentaram fenótipos de esterase diferentes daqueles frequentemente encontrados em espécies de *Meloidogyne* associadas à cultura da soja, e assim, a população 4.2, com fenótipo S1 de esterase, encontrava-se misturada com *M. incognita* na proporção de 40%, e foi semelhante ao perfil observado para *M. chitwoodi*, mas apresentou o fenótipo da enzima malato desidrogenase diferente de *M. chitwoodi* (CASTRO; LIMA; CARNEIRO, 2003). Entretanto, a partir de estudos morfométricos e morfológicos a população S1 difere de *M. chitwoodi* e de *M. incognita* (CASTRO, 2001).

Carneiro et al. (2005) encontraram um perfil atípico (Br2) em uma população do cafeeiro, semelhante ao perfil S1. Estudos moleculares com isolados apresentando este perfil evidenciaram ser uma população próxima do grupo de *M. incognita* com algum polimorfismo (COFCEWICZ et al., 2004, 2005). Pelo método de marcadores SCAR, a população atípica confirmou ser *M. incognita* (CARNEIRO et al., 2005). O perfil S1 foi, também, relatado em populações para o cafeeiro (OLIVEIRA et al., 2006) e figueira (LIMA-MEDINA et al. 2013). Um perfil denominado S2, associado a uma população de *M. incognita*, foi detectado em pimentão, no trabalho de CARNEIRO et al. (2008), que parece ser o mesmo perfil relatado como S1 (OLIVEIRA et al., 2006; CASTRO; LIMA; CARNEIRO, 2003; COFCEWICZ et al., 2004, 2005). Os autores sugerem que a identidade taxonômica desse isolado, chamado por eles S1/S2, tem que ser esclarecida comparando-se várias populações

de diferentes culturas, por meio de estudos morfológicos, morfométricos e moleculares (CARNEIRO et al., 2008).

### 2.6.2 Variabilidade Fisiológica

As preferências alimentares diferenciais, ocorrendo dentro de uma mesma espécie de *Meloidogyne*, distinguem as populações em raças fisiológicas (LORDELLO, 1992; FREITAS et al., 2006). E estas não podem ser diferenciadas morfologicamente (FREITAS et al., 2006).

De acordo com a prova de hospedeiros diferenciais da Carolina do Norte (HARTMAN; SASSER, 1985), a identificação das raças de *M. incognita* envolve a inoculação de seis plantas hospedeiras padrão: algodão (Deltapine 61), Tabaco (NC 95), Pimentão (California Wonder), Melancia (Charleston Gray) Amendoim (Florunner) e Tomate (Rutgers), como apresentado na Tabela 2.4.

**Tabela 2.4** - Teste de hospedeiros diferenciais da Carolina do Norte, utilizado para identificar raças de *Meloidogyne incognita*, proposto por Hartman e Sasser (1985).

Raças	Planta Hospedeira Diferencial					
	Algodão	Tabaco	Pimentão	Melancia	Amendoim	Tomate
	(Deltapine 61)	NC 95	California Wonder	Charleston Gray	Florunner	Rutgers
1	- <sup>1</sup>	-	+	+	-	+
2	- <sup>2</sup>	+	+	+	-	+
3	+	-	+	+	-	+
4	+	+	+	+	-	+

<sup>1</sup> A planta diferenciadora não é hospedeira da raça

<sup>2</sup> A planta diferenciadora é hospedeira da raça

Entre dezoito populações de *M. incognita*, provenientes de regiões brasileiras produtoras de soja, cinco pertenceram a raça 1, quatro a raça 2, duas a raça 3 e três a raça 4 (CASTRO; LIMA; CARNEIRO, 2003). Segundo Antonio (1992), a raça 4 parece ser mais agressiva à soja em relação às outras três. Avaliando a reação de 13 cultivares de soja a *M. javanica* e *M. incognita* raças 1, 2, 3 e 4, concluíram que todas foram resistentes às raças 1 e 2, exceto BR 29 e FT-Cometa. Laredo, MSBR 34 e Palmeto foram resistentes à raça 3. Com relação à raça 4, sete

cultivares foram resistentes e as demais foram suscetíveis ou hipersuscetíveis à essa raça.

Embora seja importante, especialmente para programas de melhoramento, o reconhecimento de raças de um determinado patógeno, Moens, Perry e Starr (2009) recomendaram a descontinuidade dessa terminologia, para *Meloidogyne*. Esse conceito não é universalmente aceito entre os nematologistas, pois a definição correta diz que: raças são biótipos de uma espécie, que se distinguem por sua preferência de hospedeiro dentro de um grupo taxonômico (MOURA, 1996). Já o teste de hospedeiros de *Meloidogyne* sp., envolve plantas de diferentes espécies (MOURA, 1996). E, considerando a ampla gama de hospedeiros das quatro principais espécies de nematoides de galhas, esse teste pode ser muito restrito. Além disso, os diferenciais do atual teste de hospedeiros consideram variedades que são agora obsoletas (ROBERTSON; DÍEZ-ROJO, 2009).

Robertson e Díez-Rojo (2009) observaram que, entre 140 populações do gênero *Meloidogyne* de regiões hortícolas da Espanha, 13 dessas populações não se encaixaram no esquema de raças da Carolina do Norte. Identificaram oito populações como *M. incognita*, sendo que seis populações foram classificadas como raça 5, e 2 populações como raça 6. Stanton e O'Donnell (1998), após estudar 41 populações de *Meloidogyne* na Austrália, usando o teste de hospedeiros diferenciais da Carolina do Norte, também, encontraram várias populações atípicas.

Estudos, também, não apresentaram correlação entre o polimorfismo citogenético, isoenzimático ou molecular e as raças de *M. incognita* (CENIS, 1993; TRIANTAPHYLLOU, 1985). A partir destas observações, levantam-se questões sobre a base genética de tais raças, que provavelmente não representam grupos monofiléticos, ou seja, aqueles que tem um ancestral em comum, mas sim resultam de evolução convergente, na qual características semelhantes têm origens diferentes (CASTAGNONE-SERENO, et. al., 2013).

Um esquema melhorado para a caracterização da ampla variabilidade na gama de hospedeiros de *Meloidogyne* foi proposto, baseado na reação de um número maior de diferenciais, cada um contendo um único gene de resistência, para a população do nematoide (ROBERTS, 1995). Mesmo assim, segundo o autor, dada a grande variabilidade dentro do gênero, pode não ser

possível desenvolver um único esquema para caracterizar as reações de todas as populações de nematoides, para uma ampla gama de culturas em todo o mundo.

### 2.6.3 Citogenética

A alta variabilidade encontrada nos nematoides parasitas de plantas tem relação direta com seu arranjo cromossomal (CASTAGNONE-SERENO, 2002). O gênero *Meloidogyne* apresenta como padrão em sua forma haploide o número cromossômico  $n=18$ . No entanto, na forma somática múltiplos de 18 raramente são encontrados (CASTAGNONE-SERENO, et. al., 2013). O estudo de Triantaphyllou (1985) provou a variabilidade citogenética no gênero.

Em *M. incognita* duas formas cromossomais foram identificadas, uma rara forma diploide, e a prevalente triploide ou hipotriploide. Populações com 32-38 cromossomos foram consideradas a forma diploide ( $n=16$  ou  $n=18$ ), com mais de 41 cromossomos triploides ( $3n$ ), e aquelas derivadas de triploides com perda de cromossomos, hipotriploides (TRANTAPHYLLOU, 1985).

As diferenças entre o número de cromossomos podem ser explicadas por rearranjos estruturais e numéricos, envolvendo fusões, deleções, duplicações e translocações (CASTAGNONE-SERENO, 2002, CASTAGNONE-SERENO et. al., 2013). Os cromossomos em *M. incognita* são holocêntricos, nestes a atividade cinetocórica está distribuída ao longo de quase todo o seu comprimento, fazendo com que os microtúbulos se associem de forma difusa em toda a extensão cromossômica e as cromátides migrem de forma paralela em anáfase (MELTERS et al., 2012). A organização centromérica diferenciada encontrada nos holocêntricos permite que fragmentos cromossômicos gerados de quebras ou de fusões mantenham sua viabilidade e gerem variações cromossômicas numéricas estáveis numa escala de tempo rápida (SANTOS, 2016). Assim, as mutações que não se perdem ao longo das gerações podem contribuir com o surgimento de novos clones com diferentes números de cromossomos, bem como no surgimento de novos biótipos (TRANTAPHYLLOU, 1985).

#### 2.6.4 Genômica, Filogenia e Virulência

A interação entre uma planta e um organismo ao parasitá-la passa pelos processos de reconhecer e infectar um hospedeiro, induzir uma resposta de suscetível e não de resistente no hospedeiro e remover nutrientes para o seu crescimento (TRUDGILL; BLOK, 2001). Ajustar a resposta suscetível, e vencer as defesas do hospedeiro, pode envolver uma multiplicidade de interações que afetam todos os aspectos da relação nematoide-planta, ou pode ser conferido por algo tão simples como a invasão intercelular, ou a produção de um sinal induzindo a uma resposta suscetível tão forte, que anularia qualquer tendência para uma resposta resistente (TRUDGILL; BLOK, 2001).

Os genes de resistência, geralmente, agem contra os nematoides de galhas sedentários induzindo uma reação de hipersensibilidade, que impede a instalação e/ou reprodução do parasita (CASTAGNONE-SERENO, 2002). A adaptação de *Meloidogyne* spp. a genes de resistência de plantas mostrou que a virulência pode ser um processo rápido, dentro de uma única ou de poucas gerações (CASTAGNONE-SERENO et al. 2013), e que após selecionada, seja estável mesmo após muitas gerações do nematoide (CASTAGNONE-SERENO, 2002).

A filogenia mais aceita entre os nematologistas, como as relações mais prováveis no gênero, agrupa as espécies em três clados, o primeiro inclui a maioria das espécies de partenogênese mitótica; o segundo as espécies de partenogênese meiótica/anfimixia e o terceiro as espécies de partenogênese meiótica (TIGANO et al., 2005).

Embora restem ainda muitas dúvidas sobre a história evolutiva do gênero *Meloidogyne*, um consenso evidenciado pelos estudos filogenéticos é de que a divergência dos grupos em diferentes modos reprodutivos foi uma etapa crítica no seu processo de especiação e diversificação, com possível ocorrência de hibridação interespecífica (CASTAGNONE-SERENO, 2013).

O sequenciamento do genoma de *M. incognita* e *M. hapla* abriu caminho para decifrar o significado da reprodução nesses parasitas (CASTAGNONE-SERENO, et. al., 2013). O genoma completo de *M. incognita* totalizou 86 Mb, o dobro do tamanho esperado. A análise dos fragmentos gerados mostrou que a maioria das regiões genômicas estão presentes em três ou mais

cópias homólogas, mas com até 8% de divergência. Ao todo, foram identificados 19212 genes codificadores de proteínas e cópias do mesmo gene com elevada variação alélica, que potencialmente poderiam permitir a divergência funcional dos produtos codificados por eles, foram considerados como genes diferentes. Possíveis genes relacionados ao parasitismo foram identificados. *Meloidogyne incognita* apresentou um conjunto sem precedentes de 61 enzimas de degradação de parede celular, como celulases, pectato-liases, xilanases, arabinases e invertases. Além dessas, 20 genes candidatos para codificar proteínas expansivas foram identificados (ABAD et al., 2008) e esse conjunto de enzimas foi semelhante a homólogos bacterianos, e possivelmente foram adquiridos via transferência horizontal de genes (THG) (ABAD et al., 2008).

Com o uso de marcadores moleculares (AFLP), Semblat et al. (2001) compararam os genótipos de nematoides avirulentos e virulentos contra o gene *Mi* do tomate, permitindo a clonagem de um fragmento de DNA encontrado apenas na linhagem virulenta, denominado *map-1*. Inicialmente *map-1* não mostrou semelhança com outras sequências em bases de dados, e a partir de uma análise filogenética se agrupou com genes homólogos que codificam para proteínas, possivelmente relacionadas a fase inicial de reconhecimento entre planta e nematoide (SEMBLAT et al., 2001).

A família de genes *map-1* foi identificada como taxonomicamente restrita aos nematoides do gênero que se reproduzem exclusivamente por partenogênese mitótica, e podem ser possíveis determinantes da especificidade das interações hospedeiro-parasita (TAMALOVA et al., 2012). Embora neste estudo não tenha sido encontrada correlação entre mutações nos domínios de *map-1* e a virulência de isolados de diferentes regiões geográficas, três novos membros da família de genes *map-1* foram descritos. No seu estudo, Semblat et al. (2000), também, mostraram falta de correlação entre a diversidade genética de populações de nematoides e sua virulência contra o gene *Mi*. Castagnone-Sereno, Semblat e Castagnone (2009), por outro lado, conseguiram demonstrar que a variação no número e arranjo de repetições internas do gene *map-1* foi correlacionada com a (a)virulência de *M. incognita* (CASTAGNONE-SERENO; SEMBLAT; CASTAGNONE, 2009). Tais resultados divergentes sugerem que a virulência não seja resultado de um único evento mutacional e que os determinantes genéticos da virulência podem ser de origens diferentes em diferentes populações (ABAD et al., 2003).

A duplicação de genes e rearranjos de domínios intergênicos foram considerados como a principal fonte de novos genes em nematoides (KATJU; LYNCH, 2006). Uma combinação de diferentes processos pode explicar esse padrão, incluindo: poliploidia, polissomia, aneuploidia e hibridização interespecífica (TRANTAPHYLLOU, 1985; CASTAGNONE-SERENO, 2006), todos esses processos são frequentemente associados à reprodução assexuada (ABAD et al., 2008).

E ainda, sequências de DNA repetitivo não codantes e elementos transponíveis representam 36% do genoma de *M. incognita* (ABAD et al., 2008). Sob um aspecto evolutivo, elementos transponíveis podem ser uma fonte importante de diversidade genética, permitindo respostas às mudanças ambientais (KIDWELL; LISCH, 2000). Alterações genômicas mediadas pelo elemento móvel *Tm1* foram associadas a alterações fenotípicas na espécie mitótica *M. javanica* e podem contribuir para a diversidade genética desta espécie clonal (GROSS; WILLIAMSON, 2011).

Sugeriu-se que na ausência de mecanismos meióticos específicos para controlar sua proliferação, esses elementos transponíveis podem invadir o genoma (ARKIPOVA; MESELSON, 2000). Além disso, esses elementos promovem rearranjos cromossômicos diferentes e, muitas vezes, mais especificamente do que outros processos celulares. Uma explicação de tais eventos é a recombinação homóloga entre cópias múltiplas presente num genoma. Embora isso ocorra, fortes evidências indicadas pelo número dos sistemas de elementos transponíveis (ET) em bactérias, plantas e animais sugerem que outro mecanismo (transposição alternativa) induza rearranjos cromossômicos associados a ET (GRAY, 2000).

Os mecanismos de plasticidade descritos, provavelmente, contribuem para a emergência de genótipos em nematoides de galhas com novas capacidades biológicas, incluindo a de superar genes de resistência em plantas. Em conjunto, esses mecanismos geram um alto nível de variabilidade, que, por sua vez, pode ajudar a explicar o sucesso parasitário nesses nematoides (CASTAGNONE-SERENO, et al., 2013).

### 3 ARTIGO A- RESPOSTA DE GENÓTIPOS DE SOJA A *Meloidogyne incognita* EM DIFERENTES NÍVEIS DE INÓCULO E PERÍODO DE AVALIAÇÃO

#### 3.1 RESUMO

Com o desenvolvimento do melhoramento genético da soja, a utilização de cultivares resistentes se tornou uma das principais medidas no manejo de *Meloidogyne incognita*. Entretanto, a variabilidade do patógeno e a falta de padronização metodológica dificultam a busca por novas fontes de resistência. Assim, o objetivo do presente estudo foi definir o nível de inóculo e período de avaliação adequados, para seleção de genótipos de soja resistentes a *M. incognita*, com base no índice de galhas (IG) e fator de reprodução (FR), em condições controladas. Foram testados 18 genótipos, divididos em grupo resistente (Bragg, CD 201, CD 202, CD 208, MG/BR 46 Conquista, PI 595099, BRS 316 RR, Centennial e Palmeto) e suscetível (BRS 133, TMG 115, CNS e BRS/MT Pintado), além dos genótipos Hartwig, Davis, Pickett, Peking e DT 2000, de comportamento não definido. Foram utilizados cinco níveis de inóculo (1000, 2000, 3000, 4000 e 5000 nematoide/planta), e as avaliações foram feitas aos 30, 45 e 60 dias após a inoculação (DAI). De acordo com o IG e FR, 30 DAI, não foi um período adequado para diferenciar os genótipos. Considerando apenas o IG, a partir de 45 DAI e em todos os níveis de inóculo foi possível diferenciar os genótipos R (BRS 316 RR e PI 595099) dos S (CNS, TMG 115 e BRS 133). Os demais genótipos R mudaram a reação para moderadamente resistentes (MR) ou S, conforme o aumento do nível populacional e período de avaliação. Quando é necessário avaliar apenas o FR, ou ambos os parâmetros (IG e FR), o menor nível de inóculo, 1000 nematoides/planta, aos 45 e 60 DAI, foi o mais adequado para diferenciação dos genótipos.

**Palavras-chave:** Nematóide de galhas, metodologias, melhoramento genético da soja, *Glycine max*

#### 3.2 ABSTRACT

With the development of soybean genetic improvement, the use of resistant cultivars has become one of the main measures in the management of *Meloidogyne incognita*. However, the variability of the pathogen and lack of methodological standardization make it difficult to search for new sources of resistance. The objective of the present study was to determine the inoculum level and the appropriate evaluation period for selection of soybean genotypes resistant to *M. incognita*, based on gall index (GI) and reproduction factor (RF), under controlled conditions. 18 genotypes were tested, divided into resistant (Bragg, CD 201, CD 202, CD 208, MG / BR 46 Conquista, PI 595099, BRS 316 RR, Centennial and Palmeto) and susceptible (BRS 133, TMG 115, CNS and BRS / MT Pintado), besides the genotypes Hartwig, Davis, Pickett, Peking and DT 2000, of undefined behavior. Five inoculum levels (1000, 2000, 3000, 4000 and 5000 nematode / plant) were used, and the evaluations were done at 30, 45 and 60 days after inoculation (DAI). According to the IG and FR, 30 DAI, was not an

adequate period to differentiate the genotypes. Considering only the GI, from 45 DAI and for all inoculum levels it was possible to differentiate R (BRS 316 RR and PI 595099) genotypes from S (CNS, TMG 115 and BRS 133). The other R genotypes changed the reaction to moderately resistant (MR) or S, as the population level and the evaluation period increased. So, when it was necessary to evaluate only the RF, or both parameters (IG and FR), the lowest level of inoculum, 1000 nematodes / plant, at 45 and 60 DAI, were the most adequate for differentiation of genotypes.

**Keywords:** Root Knot Nematode, methodologies, soybean breeding, *Glycine max*

### 3.3 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é considerada uma das principais culturas agrícolas no mundo com uma produção estimada de 336.7 milhões de toneladas (t) no último ano (USDA, 2018). No Brasil, esta cultura movimenta grande parte do agronegócio com uma produção de aproximadamente 118.88 milhões de t e um crescimento de 6.04 milhões de t ano<sup>-1</sup> durante os últimos dez anos (CONAB, 2018). Apesar do cenário positivo apresentado pela cultura, fatores bióticos e abióticos vêm gerando grandes preocupações, causando perdas de rendimento e de qualidade dos grãos.

Dentre os fatores bióticos, os fitonematoides estão entre as principais doenças responsáveis pela redução da produtividade da soja. Os principais fitonematoides que infectam a cultura da soja são os nematoides-degalhas (*Meloidoyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *M. javanica* (Treb) Chitwood), de cisto (*Heterodera glycines* Ichinohe), reniforme (*Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira) e de lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & S. Stekhoven) (SILVA et al., 2016; ALMEIDA et al., 2017).

O gênero *Meloidoyne* é considerado um dos grupos mais importantes de fitonematoides em todo o mundo devido à ampla distribuição geográfica, extensa gama de hospedeiros e envolvimento em complexos de doenças com bactérias e fungos (MOENS et al., 2009; JONES et al., 2013). As raízes de plantas de soja infectadas com *Meloidoyne* spp. apresentam galhas e necrose nos tecidos, o que compromete sua capacidade de absorver água e nutrientes. Nas lavouras de soja infectadas, geralmente, são observadas manchas em reboleiras, onde as plantas exibem sintomas como subdesenvolvimento, amarelecimento, murcha e clorose nas folhas (ASMUS, 2001). Pode até não ocorrer o subdesenvolvimento das plantas, mas por ocasião do florescimento, nota-se

intenso abortamento de vagens e amadurecimento prematura das plantas (GRIGOLLI; ASMUS, 2014).

No Brasil, *M. javanica* tem ampla ocorrência nas lavouras de soja, enquanto *M. incognita* predomina em áreas cultivadas anteriormente com café ou algodão (GRIGOLLI; ASMUS, 2014). A erradicação desses fitonematoides é extremamente difícil devido à suas características ecológicas. Entre as estratégias de manejo integrado consideradas mais promissoras, podem ser citadas a rotação ou sucessão de culturas com espécie não hospedeira, a utilização de cultivares resistentes ou tolerantes, tratamento químico e o controle biológico (COLLANGE et al., 2011; CORTE et al., 2014).

As cultivares resistentes, embora ajudem a diminuir o impacto dos nematoides de galhas em áreas infestadas, ainda permitem a reprodução do mesmo. Além disso, é observada variabilidade entre populações de *Meloidogyne* spp. em campo, o que torna a espécie capaz de se adaptar a situações adversas, como a presença de genes de resistência na planta (CASTAGNONE-SERENO et al. 2013).

Esforços contínuos na identificação de fontes de resistência a *Meloidogyne* spp. e sua implementação em programas de melhoramento de soja tornam-se cada vez mais necessários (KIM et al., 2016). No entanto, a falta de padronização nas metodologias, além da utilização de diferentes critérios de classificação, tem dificultado a seleção de genótipos resistentes (MENDES; RODRIGUEZ, 2000; SILVA 2001; RIBEIRO, 2005). Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivos definir o nível de inóculo e período de avaliação adequados, para seleção de genótipos de soja resistentes à espécie *M. incognita*, com base no índice de galhas e fator de reprodução, em condições controladas.

### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.4.1 Genótipos

Foram avaliados 18 genótipos de soja, sendo esses selecionados com base em seu comportamento previamente descrito como resistente ou suscetível, e alguns materiais de comportamento não esclarecido, para caracterização dos mesmos (Tabela 3.1).

**Tabela 3.1** - Genótipos de soja com diferentes reações ao nematoide-de-galhas *Meloidogyne incognita*. Londrina, 2017.

Genótipos	Reação a <i>M. incognita</i> <sup>1/</sup>	Referência
Bragg	R	SILVA, 2001
CD 201	R	DIAS, 2010
CD 202	R	DIAS, 2010
CD 208	R	DIAS, 2010
MG/BR 46 Conquista	R	DIAS, 2010
PI 595099	R	DIAS, 2010
BRS 316 RR	R	EMBRAPA SOJA
Centennial	R	SILVA, 2001
Palmeto	R	HA et. al. 2004
BRS 133	S	DIAS, 2010
BRS/MT Pintado	S	DIAS, 2010
TMG 115 RR	S	TMG
CNS	S	LUZZI et. al.1987
Hartwig	SI	
Picket	SI	
Peking	SI	
DT 2000	SI	
Davis	SI	

<sup>1/</sup>R= Resistente, S= Suscetível, SI= Sem informação  
TMG = Tropical Melhoramento Genético

#### 3.4.2 Instalação e delineamento experimental

Os experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação na estação experimental da GDM Genética do Brasil (23°14'01.24" S e 51°15'13.56" W), Cambé, Paraná, Brasil, entre os meses de janeiro a abril de 2015. A médias das temperaturas máxima e mínima foram 30°C e 25°C, respectivamente.

Para a realização do experimento foram utilizados tubetes plásticos de 290 mL, preenchidos com mistura de solo (latossolo vermelho eutroférico) e areia, na proporção 1:3, previamente autoclavados a 120°C por duas horas. Três sementes de cada genótipo foram semeadas por tubete. Após sete dias da semeadura foi realizado um desbaste, deixando uma planta por recipiente, compondo a unidade experimental.

Foram instalados três experimentos, sendo esses relacionados com o período de avaliação a partir da inoculação com *M. incognita* (30, 45 e 60 dias após a inoculação). O experimento foi composto pela avaliação dos 18 genótipos de soja com diferentes níveis de inóculo (1000, 2000, 3000, 4000 e 5000 ovos e juvenis

de *M. incognita* por planta). O delineamento adotado para cada experimento foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial (18 genótipos x 5 níveis de inóculo), com cinco repetições.

#### 3.4.3 Obtenção, quantificação e inoculação de *M. incognita*

O inóculo utilizado no trabalho foi composto de um misto de populações puras de *M. incognita*, oriundas de campo. Essas populações foram multiplicadas em soja, cv. BRS/MT Pintado e tomate cv. Santa Clara, em condições de casa de vegetação. Os ovos foram extraídos de acordo com o procedimento proposto por Boneti e Ferraz (1981). A suspensão concentrada obtida foi utilizada para diluições, afim de se obter os níveis de inóculo. A quantificação foi realizada com o auxílio de câmara de contagem de Peters sob microscópio ótico.

A inoculação foi realizada aos oito dias após a semeadura. Orifícios de aproximadamente 2 cm de profundidade foram feitos próximos ao colo da planta e a suspensão de nematoides foi adicionada com uma micropipeta automática, distribuída em 5 mL de suspensão.

#### 3.4.4 Avaliações

As raízes das plantas foram lavadas para a atribuição de notas visuais, de acordo com a intensidade de sintomas de galha, conforme proposto pelo protocolo do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA, 2010). Posteriormente, as raízes foram processadas para a extração de ovos e juvenis (BONETI; FERRAZ, 1981), e determinação da população final (PF) do nematoide. O fator de reprodução (FR) foi estimado conforme proposto por Oostenbrink (1966), em que  $FR = PF/P_i$ , onde plantas com  $FR \leq 1$  são classificadas como resistentes, e  $FR \geq 1$  como suscetíveis.

#### 3.4.5 Análise estatística

Os dados de cada experimento foram submetidos aos testes de normalidade e homogeneidade de variância. As variáveis que não apresentaram os pressupostos da análise de variância foram submetidas à transformação de dados

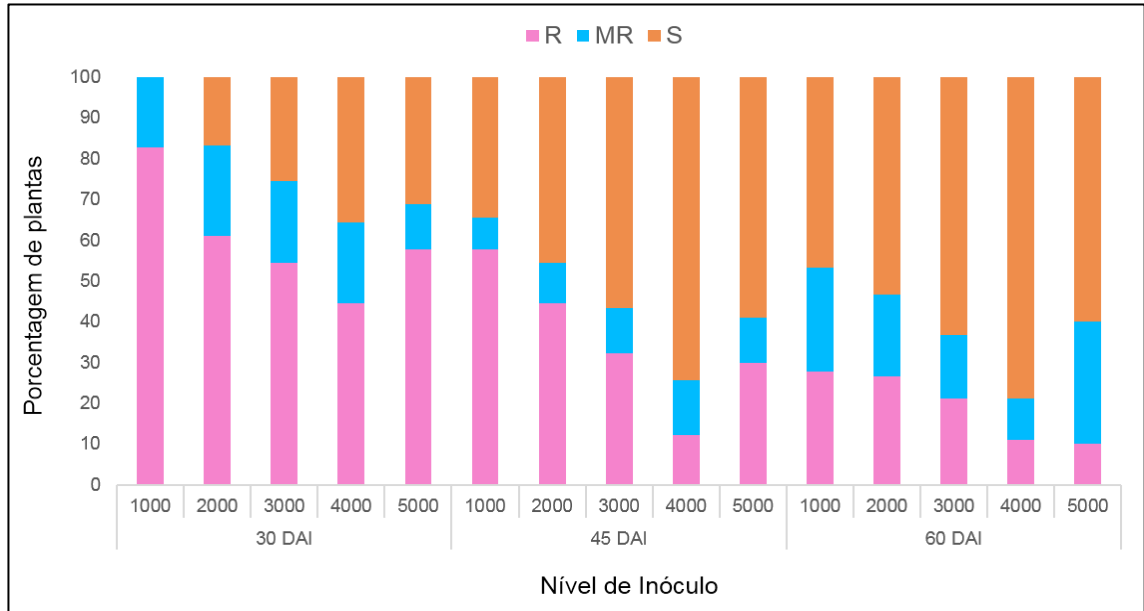
(log x+10) e posteriormente foi novamente verificado os pressupostos. Os dados foram submetidos à análise de variância e, posteriormente, ao agrupamento de médias Scott-Knott (1974). Os experimentos foram também analisados pela análise multivariada Heat map, com base na distância euclidiana padronizada e análise de agrupamento de Ward. A análise de correlação de Spermán foi realizada entre as variáveis. Os dados foram analisados pelo software R (<http://www.r-project.org>) utilizando os pacotes agricolae, ExpDes e pheatmap.

### 3.5 RESULTADOS

#### 3.5.1 Índice de Galhas

Pela análise do índice de galhas (IG), aos 30 dias após a inoculação (DAI) e no nível de 1000 nematoides por planta, todos os genótipos foram considerados como resistentes (R) (Tabela 3.2). No nível de 2000 nematoides por planta, apenas o genótipo BRS 133 foi considerado suscetível (S) e os genótipos CNS e Davis foram considerados moderadamente resistentes (MR). A partir do nível 3000 de inóculo os genótipos CNS e Davis foram classificados como S, e BRS 133, TMG 115 RR, Peking, DT 2000, Palmeto e Bragg foram classificados como MR. Apenas nos níveis 4000 e 5000, os genótipos previamente identificados como R ou S foram todos discriminados. Contudo, considerando as plantas de cada tratamento individualmente, muitas ainda foram classificadas como R, indicando que a avaliação antecipada não é a mais adequada (Figura 3.1).

**Figura 3.1** Porcentagem de plantas de soja Resistentes (R), Moderadamente Resistentes (MR) e Suscetíveis (S) a *Meloidogyne incognita*, em diferentes concentrações de inóculo inicial e período de avaliação em dias após a inoculação (DAI). \*Total de 90 plantas em cada nível (18 genótipos x cinco repetições).



Fonte:

o

próprio

autor

**Tabela 3.2** Classificação de genótipos de soja em diferentes níveis de inóculo inicial de *Meloidogyne incognita*, aos 30, 45 e 60 dias após a inoculação (DAI), baseada no Índice de Galhas (MAPA, 2010), Londrina 2017.

Genótipos	30 DAI					45 DAI					60 DAI				
	1000	2000	3000	4000	5000	1000	2000	3000	4000	5000	1000	2000	3000	4000	5000
PI 595099	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
BRS 316 RR	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	MR	MR
Conquista	R	R	R	R	R	R	R	R	R	MR	R	R	R	R	MR
CD 208	R	R	R	R	R	R	R	MR	MR	R	R	R	MR	MR	MR
CD 201	R	R	R	R	R	R	R	R	MR	MR	MR	MR	MR	MR	MR
Bragg	R	R	MR	R	R	MR	S	R	MR	MR	MR	MR	MR	S	MR
Centennial	R	R	R	R	R	R	R	R	S	MR	R	R	R	S	MR
Palmeto	R	R	MR	R	R	R	R	S	S	MR	MR	S	S	MR	MR
Hartwig	R	R	R	R	R	R	R	MR	S	S	R	MR	S	S	MR
CD 202	R	R	R	R	R	MR	R	MR	S	MR	S	MR	S	S	S
DT 2000	R	MR	MR	MR	MR	MR	S	S	S	S	MR	S	S	S	S
Pintado	R	R	R	MR	R	MR	MR	S	S	S	S	S	S	S	S
Pickett	R	R	R	S	S	MR	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Peking	R	R	MR	S	S	MR	MR	MR	S	S	S	S	S	S	S
TMG 115 RR	R	R	MR	S	MR	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
BRS 133	R	S	MR	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Davis	R	MR	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CNS	R	MR	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

R= Resistente; MR= Moderadamente Resistente; S= Suscetível

A partir do nível 1000 aos 45 DAI e em todos os demais níveis, aos 60 DAI, os genótipos CNS, BRS 133 e TMG 115 RR foram classificados como S, confirmando sua reação. Por outro lado, em relação aos genótipos previamente citados como R, apenas Conquista, PI595099 e BRS 316 RR mantiveram esta classificação nas avaliações. Assim, qualquer uma das combinações de nível e época permitiu distinguir esses dois grupos de genótipos, podendo ser considerados como bons padrões de comparação. Em relação, as cultivares CD 208, CD 201, CD 202, Bragg, Centennial e Palmeto, inicialmente comportaram-se como R, mas com o aumento do inóculo e o tempo de avaliação foram classificados com MR ou até mesmo S.

Os genótipos Davis, Pickett, Peking e DT 2000, os quais não tinham reação a *M. incognita* definida, foram identificados como S. O genótipo Hartwig, por sua vez, comportou-se como moderadamente resistente.

### 3.5.2 Fator de Reprodução

Pela análise de variância foi observado efeito significativo do genótipo (G), nível de inoculação (NI) e G x NI para todos os experimentos (Tabela 3.3). Foi observado um aumento da população do nematoide com o passar do período de avaliação e decréscimo no FR com o aumento do inóculo inicial (Tabela 4).

**Tabela 3.3** Análise de Variância do Fator de Reprodução de *Meloidogyne incognita* em 18 genótipos de soja, em diferentes níveis de inóculo e dias após a inoculação (DAI). Londrina, 2017.

	30 DAI		45 DAI	60 DAI
	GL	QM	QM	QM
Genótipo	17	0,09395**	0,30536**	0,25022**
Nível	4	0,24778**	0,92338**	0,85640**
Genótipo*Nível	68	0,00692*	0,05231**	0,06008**
Média		4,76	26,56	30,66
CV%		5,98	11,07	10,85

\* Significativo ao nível de 5 %; \*\* Significativo ao nível de 1%.

**Tabela 3.4** - Fator de Reprodução de *Meloidogyne incognita* em genótipos de soja, em diferentes níveis iniciais de inóculo e períodos de avaliação (dias após a inoculação). Londrina, 2017.

Genótipos	30					45					60				
	1000	2000	3000	4000	5000	1000	2000	3000	4000	5000	1000	2000	3000	4000	5000
PI 595099	2,62 b*	1,37 c	1,28 b	3,36 b	0,58 c	19,00 d	7,29 b	4,86 b	17,59 B	5,86 b	18,84 b	10,22 c	13,00 b	23,81 a	7,28 b
BRS 316 RR	4,38 b	2,28 c	0,84 b	3,76 b	0,80 c	31,80 c	17,38 b	13,47 b	22,38 B	7,97 b	40,32 b	14,64 c	5,98 b	28,97 a	17,32 a
Conquista	4,16 b	1,26 c	1,88 b	3,27 b	1,58 c	45,22 b	13,15 b	9,44 b	13,06 B	10,32 b	33,02 b	10,08 c	13,92 b	5,04 b	5,08 b
CD 208	4,14 b	1,89 c	1,81 b	2,42 b	1,03 c	27,46 c	19,54 b	14,75 b	16,53 B	11,69 b	21,00 b	54,06 a	13,68 b	35,43 a	14,27 b
CD 201	5,06 b	2,84 c	1,94 b	3,89 b	1,44 c	23,33 c	22,94 b	12,70 b	23,62 A	7,32 b	44,35 a	22,86 b	16,80 b	28,13 a	16,36 a
Bragg	7,43 a	4,29 b	2,46 b	3,38 b	1,49 c	48,00 b	29,58 a	12,80 b	12,64 B	10,54 b	52,26 a	25,10 b	14,83 b	37,35 a	15,71 a
Centennial	5,47 b	4,41 b	2,26 b	5,15 b	1,08 c	15,55 d	30,77 a	15,39 b	18,05 B	12,90 b	31,39 b	21,98 b	21,25 a	40,82 a	17,91 a
Palmeto	3,34 b	5,57 b	3,88 a	3,10 b	0,98 c	20,74 d	32,88 a	29,08 a	19,41 B	16,93 a	33,98 b	28,22 b	27,14 a	32,38 a	13,14 b
Hartwig	6,22 b	3,95 b	2,31 b	5,02 b	2,24 c	30,60 c	22,03 b	14,51 b	30,66 A	15,68 b	29,28 b	20,83 b	27,71 a	25,32 a	28,79 a
CD 202	5,12 b	4,69 b	2,05 b	3,67 b	1,76 c	41,18 b	9,69 b	13,32 b	28,82 A	14,22 b	37,82 b	28,51 b	28,89 a	43,99 a	17,89 a
DT 2000	7,48 a	6,39 a	4,32 a	5,26 b	3,34 b	40,70 c	46,99 a	32,42 a	29,14 A	27,21 a	50,68 a	31,25 a	49,04 a	51,84 a	15,29 a
Pintado	8,94 a	3,31 c	4,33 a	6,47 b	1,75 c	50,78 b	32,16 a	20,89 a	42,60 A	15,74 b	60,77 a	33,79 a	36,44 a	34,80 a	22,35 a
Pickett	12,93 a	6,82 a	5,60 a	6,21 b	3,80 b	62,02 b	40,42 a	34,01 a	34,87 A	27,82 a	47,46 a	31,30 a	35,33 a	26,49 a	28,26 a
Peking	11,08 a	8,19 a	5,77 a	11,38 a	5,91 a	48,72 b	40,65 a	13,92 b	11,07 B	22,00 a	49,32 a	46,18 a	25,60 a	37,59 a	8,00 b
TMG 115 RR	10,91 a	8,49 a	2,85 b	4,92 b	3,96 b	46,37 b	21,88 b	28,86 a	29,71 A	11,77 b	58,18 a	33,74 a	35,76 a	39,65 a	23,00 a
BRS 133	11,44 a	11,75 a	2,64 b	10,88 a	4,20 b	86,52 a	43,50 a	17,65 b	19,52 B	24,93 a	55,61 a	38,46 a	39,96 a	32,28 a	22,66 a
Davis	10,67 a	7,53 a	5,85 a	3,80 b	3,24 b	45,44 b	50,88 a	28,13 a	27,03 A	32,39 a	76,89 a	63,60 a	45,47 a	18,57 a	35,01 a
CNS	9,44 a	8,91 a	4,78 a	11,84 a	8,19 a	79,10 a	59,90 a	36,99 a	34,32 A	26,86 a	68,06 a	34,14 a	37,15 a	37,03 a	31,43 a

\*Médias seguidas de letras iguais na linha não diferem entre si de acordo com o teste Scot-Knott à 5% de significância. Médias originais dos dados transformados por  $\log(x+10)$ .

Aos 30 DAI, os genótipos CD 201, CD 202, MG/BR 46 Conquista, CD 208, PI595099, Hartwig, BRS 316 RR e Centennial formaram um grupo constante em todos os níveis de inóculo, apresentando menor Fator de Reprodução (FR) em relação aos demais. Por outro lado, genótipos suscetíveis, que até o nível 3000 foram diferenciados dos resistentes, nos níveis de 4000 e 5000 se agruparam junto aos R.

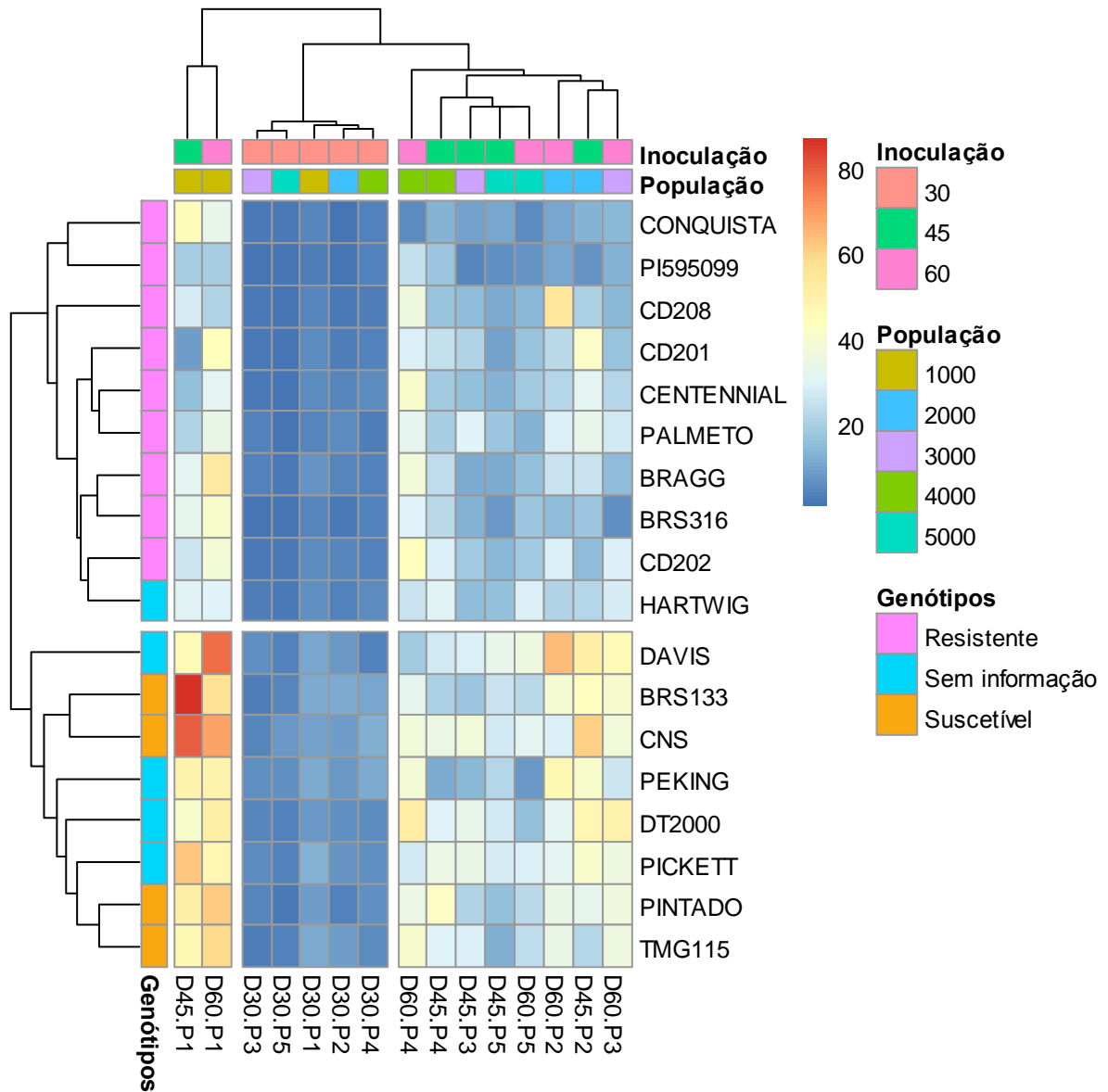
Aos 45 DAI, no nível 1000, quatro grupos foram formados, e a maioria dos genótipos resistentes diferenciaram-se dos suscetíveis, com exceção de Bragg, MG/BR 46 Conquista e CD 202, que foram semelhantes a BRS/MT Pintado, Pickett, Peking, TMG 115 RR e Davis. PI 595099, Centennial e Palmeto apresentaram os menores FR. Por outro lado, as cultivares CNS e BRS 133, apresentaram os maiores FR. Nos demais níveis os genótipos ficaram agrupados de forma semelhante ao nível 1000. Os genótipos PI 595099, BRS 316 RR, MG/BR 46 Conquista e CD 208 permaneceram constantes em um agrupamento, como os mais resistentes, e a DT 2000, Pickett, Davis e CNS no agrupamento de genótipos que apresentaram os maiores valores de FR. Aos 60 DAI, os genótipos foram melhor diferenciados nos menores níveis de inóculo.

Pela análise multivariada foi observada a formação de dois grandes grupos de genótipos diferenciados adequadamente como R ou S (Figura 3.2). O primeiro grupo incluiu MG/BR 46 Conquista, PI 595099, CD 208, CD 201, Centennial, Palmeto, Bragg, BRS 316 RR e CD 202, além de Hartwig que semelhante ao observado para o IG, agrupou-se aos genótipos R. O segundo grupo abrangeu os genótipos S (BRS 133, CNS, TMG 115 RR, BRS/MT Pintado, Davis, Peking, Pickett e DT 2000).

Considerando o período de avaliação após a inoculação e nível de inóculo inicial foi observada a formação de três grupos. A pouca diferenciação entre os genótipos, aos 30 DAI, confirmam a inadequação da avaliação dos genótipos nesse período. Os níveis 2000, 3000, 4000 e 5000, aos 45 e 60 DAI, por sua vez, formaram um outro grupo, sendo possível observar diferença entre os genótipos, com maior população de nematoides concentrada nos genótipos suscetíveis. Contudo, no agrupamento que incluiu os genótipos no nível 1000 nematoides por planta, aos 45 e 60 DAI, foi observado os maiores FR de *M. incognita* nos genótipos previamente identificados como S, BRS 133, CNS, BRS/MT Pintado e TMG 115 RR (Tabela 4), e a diferenciação dos resistentes foi mais adequada. Assim, utilizando o

FR como critério, o nível 1000 nematoides por planta, tanto aos 45 como aos 60 DAI, foi o mais adequado para distinguir os genótipos R e S.

**Figura 3.2** - Análise do Fator de Reprodução de *Meloidogyne incognita* aos 30, 45 e 60 dias após a inoculação (DAI), com diferentes níveis populacionais, em genótipos de soja.



Fonte: o próprio autor

Pela análise de correlação de Spearman, foi observada correlação positiva entre o IG e FR entre todas as combinações (Tabela 3.5), comprovando que a análise visual do IG permite uma correta discriminação dos acessos R e S. Contudo, observando ambas as variáveis, a utilização do menor nível de inóculo, aos 45 e 60 DAI, é mais adequada.

**Tabela 3.5** - Correlações entre Índice de Galhas (IG) e Fator de Reprodução (FR).

		IG			
		Inóculo	30 DAI	45 DAI	60 DAI
FR	1000	0,83**	0,84**	0,81**	
	2000	0,84**	0,71**	0,58**	
	3000	0,83**	0,72**	0,81**	
	4000	0,72**	0,53*	0,36	
	5000	0,87**	0,85**	0,53*	

\*\*Significativo ao nível de 1%. \*Significativo ao nível de 5%

### 3.6 DISCUSSÃO

A correlação positiva entre o IG e o FR validam a utilização da escala de notas no processo de seleção de genótipos de soja resistentes. Hussey e Boerma (1981) foram pioneiros em estudar a correlação entre IG e a multiplicação de *M. incognita* na soja, verificando ainda a correlação positiva entre resultados de casa de vegetação com o campo. Kinloch et al. (1985), por sua vez, reportaram a correlação negativa entre o IG e a produção da soja. A perda de rendimento relacionada ao aumento do inóculo inicial de *M. incognita* foi reportada por Fourie, Mc Donald e De Waele (2010) também na soja, por Kayani, Mukhtar e Hussain (2017) no pepino e por Hussain et al. (2015) na berinjela.

Com base no FR, foi observada uma maior discriminação entre os genótipos resistentes e suscetíveis no menor nível de inóculo, tanto aos 45 como aos 60 DAI. O decréscimo no FR com o aumento do nível populacional pode explicar a menor diferenciação dos genótipos nos níveis mais elevados. Segundo Perry e

Moens (2006), conforme se aumenta a quantidade de inóculo, a multiplicação é limitada pela competição intraespecífica, por alimento e espaço vital disponível, resultando nessa relação inversa. Resultados semelhantes foram obtidos para *M. incognita* na soja (FOURIE; MC DONALD; DE WAELE, 2010), na berinjela (HUSSAIN et al. 2015), no pepino (KAYANI; MUKHTAR; HUSSAIN, 2017; KAYANI; MUKHTAR; HUSSAIN, 2018) e em quiabo (HUSSAIN; MUKHTAR; KAYANI, 2011). Também foram observados para *M. javanica* e *M. hispanica* no tomateiro (MALEITA et al. 2012) e *M. paranensis* no cafeeiro (ANDREAZI et al. 2014).

Nossos resultados indicam que a avaliação antecipada (30 DAI) deve ser descartada, pois mesmo o trabalho tendo sido realizado na estação mais quente, o tempo não foi suficiente para distinguir os genótipos pelo FR, em nenhum dos níveis de inóculo. Embora tenham se diferenciado pelo IG, nos níveis 4000 e 5000, se esse mesmo procedimento fosse realizado em condições de temperaturas mais amenas, poderia demandar ainda mais tempo para que a expressão do sintoma fosse observada, mesmo em alto nível de inóculo, pois para diferentes culturas a temperatura afeta o desenvolvimento do nematoide e a reação da planta (NARDACCI; BAKER 1979; SHANE; BAKER 1986; CAMPOS; CAMPOS; POZZA, 2008; DEVRAN et. al. 2010; ZHU; QIAN; HUA, 2010; FERNANDEZ; CABASAN; DE WAELE, 2013; CABASAN et. al. 2016).

Em fases dos programas de melhoramento em que muitos genótipos são avaliados, a partir de 45 DAI, pode-se tomar apenas o IG como método de seleção, comprovado pela alta correlação entre todas as variáveis. No entanto, quando houver necessidade de uma avaliação mais criteriosa, é recomendável considerar tanto o IG como o FR. Nesse caso, o menor nível de inóculo é o mais adequado. É importante ressaltar que, em situações com objetivos distintos dos aqui apresentados, deverá sempre ser testada a adequação do nível de inóculo para cada tipo de condição, espécie de nematoide e cultura.

As diferenças entre os genótipos que permitiram separá-los em grupos distintos, conforme sua adequação como hospedeiros, estão de acordo com trabalhos realizados por Dias (2010), Luzzi et. al. (1987) e Davis et. al. (1998). No entanto, foi observada uma expressiva porcentagem de multiplicação de *M. incognita* nos genótipos resistentes em relação aos suscetíveis, concordando com outros trabalhos em cultivares resistentes, que indicaram altas populações do nematoide na rizosfera ao final do ciclo da cultura (NIBLACK et. al. 1986; HERMAN et. al. 1991).

Embora, cultivares com baixo IG venham permitindo o cultivo em áreas onde ocorre a presença do nematoide (DIAS et. al. 2010) e os benefícios de cultivares resistentes sobre os suscetíveis já tenham sido indicados (NIBLACK et. al. 1986; FOURIE; MC DONALD; DE WAELE, 2010, 2013), é importante salientar que, por essa resistência não ser completa, essa opção pode não ser suficiente como única estratégia de manejo, principalmente quando plantas suscetíveis serão cultivadas em seguida.

### 3.7 CONCLUSÃO

A avaliação de genótipos de soja quanto à sua resistência para *M. incognita* aos 30 DAI não é adequada. O nível de 1000 nematoides, avaliando as plantas aos 45 e 60 DAI, permite distinguir genótipos resistentes e suscetíveis adequadamente tanto pelo IG quanto pelo FR. A correlação entre IG e FR confirma a utilização de escala de notas na seleção de resistência, mas não descarta a necessidade de quantificação do FR em avaliações mais criteriosas, como a caracterização de genótipos.

## 4 ARTIGO B- AGRESSIVIDADE DE POPULAÇÕES DE *Meloidogyne incognita* EM GENÓTIPOS DE SOJA

### 4.1 RESUMO

Embora o nematoide de galhas, *Meloidogyne incognita*, se reproduza por partenogênese mitótica, variabilidades fisiológica, molecular e fenotípica são observadas entre populações deste fitoparasita em diversas culturas. A variabilidade dos patógenos é um dos principais problemas enfrentados pelos programas de melhoramento genético, que buscam genótipos com resistência e adaptados para diversas condições. Nesse contexto, os objetivos do trabalho foram caracterizar populações de *M. incognita*, de diferentes regiões e hospedeiros, quanto à raça fisiológica e agressividade em genótipos de soja. As populações estudadas foram provenientes das culturas da soja, fumo, café e algodão, dos estados da Bahia, Paraná, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais. A identificação foi realizada por eletroforese isoenzimática, padrão perineal e raça do nematoide, de acordo com o teste de hospedeiros diferenciais da Carolina do Norte. As populações foram inoculadas nos genótipos considerados resistentes Bragg, Centennial, PI 595099, BRS 316 RR, e nos suscetíveis DT 2000, BRS/MT Pintado e TMG 115 RR, para avaliação de agressividade. A raça 3 de *M. incognita* foi predominante e as populações mais agressivas (A01, A02 e A03) foram identificadas como pertencentes a essa raça, e provenientes dos estados do Mato Grosso, Paraná e Bahia, respectivamente. Contudo, populações pouco agressivas também foram identificadas como raça 3. As populações A07, A08, A09 e A10, por sua vez, foram menos agressivas e não apresentaram o mesmo perfil fisiológico entre si. Dessa forma, não houve correlação entre a agressividade das populações nos genótipos de soja com a raça do nematoide.

**Palavras-chave:** Agressividade. Melhoramento Genético. Raça Fisiológica.

### 4.2 ABSTRACT

Although the root knot nematode, *Meloidogyne incognita*, is reproduced by mitotic parthenogenesis, physiological, molecular and phenotypic variabilities are observed among populations of this phytoparasite in several cultures. Pathogen variability is one of the main problems faced by breeding programs, which seek resistance genotypes, adapted to different conditions. In this context, the objectives of this study were to characterize populations of *M. incognita* from different regions and hosts, regarding their physiological race and aggressiveness in soybean genotypes. The studied populations came from soybean, tobacco, coffee and cotton, from the states of Bahia, Paraná, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul and Minas Gerais. Identification was performed by isoenzymatic electrophoresis, perineal pattern and the nematode race was identified according to the North Carolina differential host test. The populations were inoculated in the genotypes considered resistant (Bragg, Centennial, PI 595099, BRS 316 RR) and susceptible (DT 2000, BRS / MT Pintado and TMG 115 RR) to evaluate aggressiveness. Race 3 was predominant, with most

aggressive populations (A01, A02 and A03) belonged to this race, and came from the states of Mato Grosso, Paraná and Bahia, respectively. However, non-aggressive populations were also identified as race 3. Populations A07, A08, A09 and A10, on the other hand, were less aggressive and did not present the same physiological profile among themselves. Thus, there was no correlation between the aggressiveness of populations in soybean genotypes and the nematode race.

**Keywords:** Aggressiveness. Breeding. Sequencing. Physiological Race.

#### 4.3 INTRODUÇÃO

Os nematoides fitoparasitas causam um impacto significativo na produtividade das culturas, levando a perdas de bilhões de dólares em todo o mundo (NICOL et al., 2011). As espécies do gênero *Meloidogyne* são consideradas como as mais prejudiciais e economicamente importantes, pois são amplamente distribuídas e podem ser encontradas associadas a quase todas as plantas vasculares (JONES et al., 2013). Entre os nematoides de galhas, *M. incognita* é uma das espécies mais importantes para a cultura da soja, predominando em áreas anteriormente cultivadas com algodão e café (DIAS et al., 2010), e embora se reproduzam por partenogênese mitótica obrigatória, suas populações apresentam como características comuns uma rápida colonização e adaptação em ambientes desfavoráveis (TRUDGILL; BLOK, 2001).

O emprego de variedades resistentes representa um dos pilares no controle de nematoides, sendo considerado o método ideal, por ser aplicável em grandes áreas e apresentar baixo impacto ambiental comparado aos métodos de controle químico (CAMARGO, 2011). Entretanto, a base genética da resistência aos nematoides do gênero *Meloidogyne*, presente nas cultivares de soja em uso, é restrita ao gene *Rmi1*, provavelmente presente, também, entre as cultivares elite de soja (HA et al., 2004).

A inerente variabilidade que ocorre nas populações de *M. incognita* pode ser observada pela presença de raças fisiológicas (HARTMAN; SASSER, 1985) e citológicas, que se diferenciam pelo número de cromossomos (TRANTAPHYLLOU, 1985) e, também, por diferentes perfis eletroforéticos para a isoenzima  $\alpha$ -esterase (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1985; CARNEIRO et al.; 1996, 2000, 2004; CASTRO et al., 2003; LIMA MEDINA et al., 2006). Por outro

lado, os mecanismos moleculares responsáveis por essa variação ainda necessitam ser melhor elucidados.

Considerando esta variabilidade é importante a correta identificação da espécie de nematoide estudada, além da necessidade da manutenção da pureza do inóculo, e a caracterização de diferentes populações quanto à agressividade. Estes são pontos fundamentais a serem considerados na busca e seleção por novas fontes de resistência. Nesse contexto, os objetivos do trabalho foram caracterizar populações de *M. incognita*, de diferentes regiões e hospedeiros quanto à raça fisiológica e agressividade em genótipos da soja.

#### 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

##### 4.4.1 Populações de *Meloidogyne incognita*

Amostras de plantas de soja parasitadas por nematoides de galhas foram coletadas em vários estados produtores. Inicialmente foi realizada a análise nematológica para verificar a ocorrência de outras espécies de fitonematoides e, também, a observação da configuração perineal de fêmeas, para detectar a provável espécie. As mesmas amostras foram encaminhadas para a identificação por eletroforese isoenzimática, e as populações foram então estabelecidas em tomateiro cv. Santa Clara) e soja cv. BRS/MT Pintado até a sua utilização. As amostras onde identificou-se apenas a espécie *M. incognita* foram utilizadas no trabalho, e identificadas como A02, A04, A05 e A06, coletadas nos estados do Paraná, Bahia e Mato Grosso do Sul.

Também foram utilizadas as populações A01 e A03, cedidas pela Fundação Mato Grosso e Embrapa Soja, previamente identificadas como *M. incognita*. Além dessas, as populações A07, A08, A09 e A10 foram cedidas pelo Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR, e foram multiplicadas a partir de massa de ovos, individualmente coletadas de fêmeas identificadas como *M. incognita*. Após o estabelecimento, e antes de serem inoculadas, foi realizada novamente a identificação isoenzimática de fêmeas obtidas de cada população. A Tabela 4. 1 contém a caracterização completa das populações estudadas.

**Tabela 4.1** - Caracterização de populações de *Meloidogyne incognita*, obtidas de diferentes locais e culturas. Londrina, 2017.

ID	Município	Estado	Hospedeiro (Nome comum)	Instituição de origem
A01	Rondonópolis	MT	Algodão	Fundação MT
A02	Primeiro de Maio	PR	Soja	GDM <sup>1</sup>
A03	Formosa do Rio Preto	BA	Soja	Embrapa Soja
A04	Formosa do Rio Preto	BA	Soja	GDM
A05	Luís Eduardo Magalhães	BA	Soja	GDM
A06	Maracaju	MS	Soja	GDM
A07	Marechal Cândido Rondon	PR	Fumo	lapar <sup>2</sup>
A08	Lavras	MG	Soja	lapar
A09	Perobal	PR	Café	lapar
A10	Londrina	PR	Jangada Brava	lapar

<sup>1</sup> GDM Genética do Brasil

<sup>2</sup> Instituto Agrônômico do Paraná

#### 4.4.2 Teste de Raça

Após a confirmação da espécie como sendo *M. incognita* por eletroforese isoenzimática, foi realizada a identificação das raças de acordo com o teste de hospedeiros da Carolina do Norte (HARTMAN; SASSER, 1985). Para tanto, mudas das plantas diferenciadoras foram previamente preparadas, e posteriormente, seis repetições de cada foram inoculadas com 4000 ovos e/ou juvenis de *M. incognita*. Após 60 dias da inoculação, os sistemas radiculares das plantas foram retirados e avaliados quanto ao Índice de Galhas (MAPA, 2010), para verificação da multiplicação do nematoide.

#### 4.4.3 Avaliação fenotípica em genótipos de soja

O trabalho foi conduzido em casa de vegetação da Estação Experimental da GDM Genética do Brasil, em Cambé – PR, cujas coordenadas geográficas são: 23°14'01,24" S e 51°15'13,56" W, no período de dezembro de 2016 a janeiro de 2017. Durante esse período as temperaturas mínima, média e máxima foram de, 21°C, 28°C e 34°C, respectivamente.

A semeadura foi realizada em tubetes plásticos de 290 mL, preenchidos com mistura de solo (latossolo vermelho eutroférico) e areia, na

proporção 1:3, previamente autoclavada a 120°C por duas horas. Durante o período de condução do trabalho foi realizada adubação de cobertura (NPK 4-14-8) quando necessário.

Os genótipos utilizados foram Bragg, Centennial, PI 595099, BRS 316 RR (Resistente = R), DT 2000, BRS/MT Pintado e TMG 115 RR (Suscetível = S). Sete dias após a semeadura foi realizado um desbaste, deixando uma planta por tubete. No dia seguinte foi realizada a inoculação. Para o preparo do inóculo das populações, que foram multiplicadas no tomateiro e na soja, as raízes das plantas foram retiradas, lavadas e processadas, segundo o procedimento proposto por Boneti e Ferraz (1981). Na sequência, a suspensão de inóculo obtida foi quantificada com auxílio de microscópio ótico e câmara de contagem de Peters. A inoculação foi realizada através de orifícios feitos no solo, próximo ao colo da planta, com o auxílio de uma pipeta automática, através da deposição de 5 mL de suspensão contendo 4000 ovos e/ou juvenis de *M. incognita*, em cada planta.

Após 60 dias da inoculação (DAI) foi realizada a avaliação. A parte aérea das plantas foi descartada, e as raízes retiradas e lavadas para a caracterização do Índice de Galhas, como proposto pelo protocolo do MAPA (2010). Foi realizada a pesagem do sistema radicular para obter a massa fresca (MFSR). Em seguida, cada raiz foi processada em liquidificador com solução de hipoclorito de sódio 0,5% (BONETI; FERRAZ, 1981), para a quantificação da população final (PF), cálculo do número de nematoides por grama de raiz (PF/MFSR) e fator de reprodução ( $FR=Pi/Pf$ ) (OOSTENBRINK, 1966).

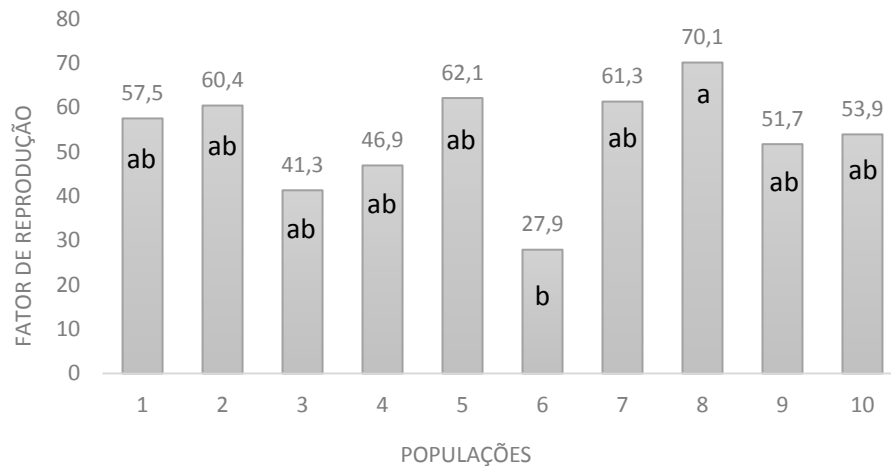
O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (7 genótipos x 10 populações), com cinco repetições, e foi repetido uma vez. Para a análise dos dados, foram verificados em cada experimento os pressupostos da normalidade, para todas as variáveis. Os dados de População Final e Nematoides/ g de raiz foram transformados por  $\log(x+10)$ , para então realização do teste de Scott-Knott (1974) à 5% de significância. Para o fator de reprodução (FR) foi realizada uma análise de variância não paramétrica (Anova test), e foram comparados pelo teste de médias fdr, pois mesmo após a transformação não se aproximou da distribuição normal. Foi verificada a correlação de Spearman, entre os resultados dos dois experimentos, para verificar a repetibilidade dos resultados. Os dados foram analisados pelo software R (<http://www.r-project.org>).

## 4.5 RESULTADOS

### 4.5.1 Viabilidade do Inóculo em Tomateiro

Todas as populações apresentaram abundante multiplicação no tomateiro, confirmando a viabilidade no inóculo (Figura 4.1).

**Figura 4.1** - Fator de Reprodução de *Meloidogyne incognita* em tomateiro cv. Rutgers. \*Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de significância. Londrina, 2017.



**Fonte:** o próprio autor

### 4.5.2 Teste de Raça

Os resultados do teste de raça de *M. incognita* estão apresentados na Tabela 4.2. As populações A01 à A06 e a população A08 apresentaram perfil fisiológico compatível com a raça 3, a qual se multiplica no algodão mas não no fumo. Apenas a população A07 foi identificada como raça 2, e as populações A09 e A10 como raça 1, nenhuma população apresentou o perfil de raça 4 (Tabela 4.3).

**Tabela 4.2** - Raças identificadas a partir das populações de *Meloidogyne incognita*, de acordo com o teste de Hospedeiros Diferenciais da Carolina do Norte (HARTMAN; SASSER, 1985). Londrina, 2017.

População	Hospedeiros diferenciais			Reação
	Algodão Deltapine 61	Tabaco NC 95	Tomate Rutgers	Raça
A 01	+	-	+	3
A 02	+	-	+	3
A 03	+	-	+	3
A 04	+	-	+	3
A 05	+	-	+	3
A 06	+	-	+	3
A 07	-	+	+	2
A 08	+	-	+	3
A 09	-	-	+	1
A 10	-	-	+	1

+Hospedeiro; - Não hospedeiro

#### 4.5.3 Índice de Galhas

Com base no Índice de galhas(IG), todos os genótipos foram classificados como S, quando inoculados com a população A03, no experimento 1 e 2, com exceção da PI 595099, que no experimento 2 foi considerada MR. A BRS 316 RR, Centennial e PI 595099 se comportaram como MR ou R à população A01 no experimento 1, e populações A01 e A02 no experimento 2 (Tabela 4.4).

Todos os genótipos foram classificados como R ou MR, quando inoculados com as populações A07, A08 A09 e A10 no experimento 1 e 2. Os genótipos Bragg, BRS 316 RR, Centennial e PI 505099 foram R quando inoculados com as populações A04, A05 e A06. Ocorreu variação na reação de alguns genótipos para essas mesmas populações entre os 2 experimentos. A TMG 115 RR que no experimento 1 foi MR à população A04, no experimento 2 foi S. BRS/MT Pintado foi S e em segundo momento MR. Já a DT 2000 foi R às populações A04 e A05 e MR à A06, no experimento 1, e comportou-se como S para as três populações no experimento 2.

**Tabela 4.3** - Reação de cultivares de soja às populações de *Meloidogyne incognita*, de acordo com o Índice de Galhas (MAPA, 2010), onde R= Resistentes, MR= Moderadamente Resistente e S= Suscetível. Londrina, 2017.

Genótipos (Experimento 1)							
Pops	TMG 115 RR	BRS/MT Pintado	DT 2000	Bragg	BRS 316 RR	Centennial	PI 595099
A01	S	S	S	MR	MR	MR	R
A02	S	S	S	S	R	S	R
A03	S	S	S	S	S	S	S
A04	MR	S	R	R	R	R	R
A05	R	R	R	MR	R	R	R
A06	MR	R	MR	R	R	R	R
A07	MR	R	R	R	R	R	R
A08	R	R	R	R	R	R	R
A09	R	R	R	R	R	R	R
A10	R	R	R	R	R	R	R

Genótipos (Experimento 2)							
Pops	TMG 115 RR	BRS/MT Pintado	DT 2000	Bragg	BRS 316 RR	Centennial	PI 595099
A01	S	S	S	S	MR	R	R
A02	S	S	S	S	MR	MR	MR
A03	S	S	S	S	S	S	MR
A04	S	MR	S	R	R	R	R
A05	R	R	S	R	R	R	R
A06	MR	R	S	R	R	R	R
A07	R	R	R	R	R	R	R
A08	R	R	R	R	R	R	R
A09	R	R	R	R	R	R	R
A10	R	R	R	R	R	R	R

#### 4.5.4 População Final, Nematoides/g de raiz e Fator de Reprodução

De acordo com a análise de variância, a interação populações x genótipos foi significativa para as variáveis resposta nos dois experimentos (Tabelas 4.5 e 4.6), comprovando que o inóculo tem efeito sobre a reação da planta ao nematoide.

**Tabela 4.4** - Análise de Variância para as variáveis resposta Massa Fresca de Raiz (MFR), População Final (PF) e Nematoides/g de raiz (Nem/g), de dois experimentos com a inoculação das populações (Pop) de *Meloidogyne incognita* em sete genótipos (Gen) de soja. Londrina, 2017.

FV	QM – REP 1				QM – REP 2			
	GL	MFR <sup>1</sup>	PF <sup>2</sup>	Nem/g <sup>2</sup>	GL	MFR <sup>1</sup>	PF <sup>2</sup>	Nem/g <sup>2</sup>
Gen	6	32,54**	3,08**	3,11**	6	26,83**	5,05**	4,56**
Pop	9	8,71**	26,32**	23,38**	9	3,85**	20,53**	19,88**
Gen x Pop	54	1,63 <sup>ns</sup>	0,36**	0,31**	54	1,67**	0,32**	0,35**
Média		4,36	31501	6928		4,01	35541	9495
CV %		25,60	7,83	9,05		23,40	6,88	8,08

<sup>1</sup> Dados originais; <sup>2</sup> Dados transformados por log (x+10); \*\* Significativo à 5%.

**Tabela 4.5** - Análise Variância (anova test) para a variável resposta Fator de Reprodução (FR), de dois experimentos, com a inoculação de populações de *Meloidogyne incognita* em sete genótipos de soja. Londrina, 2017.

FV	Experimento 1			Experimento 2		
	Estatística	DF	p-valor	Estatística	DF	p-valor
Populações	360,35	6,05	<0,001**	337,54	5,27	<0,001**
Genótipos	37,71	4,37	<0,001**	74,00	5,03	<0,001**
Pop x Gen	3,96	16,41	<0,001**	4,56	20,24	<0,001**

o  
de

sdobramento das interações para as variáveis PF e Nem/g, nos dois experimentos, pode-se observar que a população A03 apresentou maior multiplicação do nematoide (Tabelas 4.7 e 4.8). As populações A01 e A02 agruparam-se de forma semelhante à população A03, e estas diferiram das demais nos genótipos, para as duas variáveis. As populações A04 à A10, embora tenham se subdivido em grupos dentro dos genótipos, apresentaram multiplicação do nematoide inferior à observada nas populações A01, A02 e A03. Em relação aos genótipos, a PI 595099 e Centennial apresentaram menor multiplicação do nematoide. As cultivares TMG 115 RR, BRS/MT Pintado, Bragg, e BRS 316 RR apresentaram variação em sua classificação em resposta às diferentes populações, mas de modo geral BRS 316 RR multiplicou menos o nematoide do que as demais. A DT 2000 apresentou pouca variação em sua classificação, no grupo de maior multiplicação do nematoide

O Fator de Reprodução mais elevado foi observado na população A03, semelhante às populações A01 e A02. O FR nessas três populações e em todos os genótipos foi superior ao FR das demais populações (Tabela 4.9). As

populações A04, A05 e A06 nos genótipos suscetíveis TMG 115 RR, BRS/MT Pintado e DT 2000 apresentaram FR >1, e superiores ao FR observado nas populações A07 à A010, em que o FR foi inferior ou muito próximo de 1.

**Tabela 4.6** - Número de nematoides/grama de raiz das populações de *Meloidogyne incognita* em sete genótipos de soja. Londrina, 2017.

Populações	Genótipos (Experimento 1)							
	TMG 115 RR	BRS/MT Pintado	DT 2000	Bragg	BRS 316 RR	Centennial	PI 595099	
A01	20500 aA*	22361 aA	14250 aA	13091 aA	12464 aA	9044 bB	5455 bB	
A02	17366 aA	29965 aA	26563 aA	15241 aA	18729 aA	11522 bA	5442 bB	
A03	26114 aA	32038 aA	20966 aA	21091 aA	28826 aA	27082 aA	24505 aA	
A04	3394 bB	13604 aA	2151 cB	2777 bB	3640 bB	1904 cB	781 cC	
A05	1656 cC	2404 bB	9201 bA	935 cC	1927 bB	587 dC	1137 cC	
A06	3712 bB	3217 bB	7046 bA	1964 bB	3271 bB	737 dC	570 cC	
A07	1405 cA	3186 bA	931 dB	671 cB	1586 bA	359 eB	159 eC	
A08	226 dB	242 dB	989 dA	53 dC	152 cB	167 fB	57 fC	
A09	176 dB	134 dB	882 dA	31 dC	173 cB	102 fB	33 fC	
A10	330 dB	418 cB	1719 cA	929 cA	219 cB	199 eB	276 dB	

Populações	Genótipos (Experimento 2)							
	TMG 115 RR	BRS/MT Pintado	DT 2000	Bragg	BRS 316 RR	Centennial	PI 595099	
A01	38016 <sup>1</sup> aA*	43153 aA	17992 aB	18563 aB	18832 aB	15011 aB	8303 bB	
A02	13882 bB	41882 aA	29689 aA	20440 aA	15293 aB	15924 aB	8026 bB	
A03	25159 aA	50952 aA	26974 aA	29510 aA	36834 aA	25552 aA	33054 aA	
A04	6885 cB	22099 aA	2121 dC	5980 bB	3989 bC	3368 bC	669 cD	
A05	2639 dC	3516 cB	10287 bA	2120 cC	3914 bB	590 cD	1169 cC	
A06	4434 cB	7881 bA	11219 bA	1966 cC	4103 bB	1965 bC	897 cD	
A07	912 eB	2651 cA	3224 dA	1016 cA	1376 cA	261 dC	264 dC	
A08	643 eB	617 eB	3274 cA	123 eC	193 dC	85 eD	265 dC	
A09	293 fB	238 fB	1519 dA	178 eB	413 dB	109 eB	161 dB	
A10	643 eB	1235 dB	8233 cA	636 dB	857 cB	119 eC	236 dC	

\*Médias seguidas de letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre de acordo com teste Scot-Knot à 5% de significância. <sup>1</sup> Médias originais de dados transformados por  $\log(x+10)$ .

**Tabela 4.7** - População Final de *Meloidogyne incognita* em sete genótipos de soja. Londrina, 2017.

Populações	Genótipos (Experimento 1)							
	TMG 115 RR	BRS/MT Pintado	DT 2000	Bragg	BRS 316 RR	Centennial	PI 595099	
A01	81952 aA*	75008 bA	62720 aA	77184 aA	56576 bA	33376 bB	23264 bB	
A02	87296 aA	121152 aA	87744 aA	85440 aA	69024 bA	53600 bB	28032 bB	
A03	110432 aA	169344 aA	108800 aA	136064 aA	169920 aA	145728 aA	119968 aA	
A04	11584 bB	39072 bA	10496 cB	18176 bB	12448 cB	8192 cB	2656 cC	
A05	6528 bB	8416 cB	29440 bA	4832 cB	6496 cB	2784 dB	3680 cB	
A06	12352 bB	10848 cB	25760 bA	13760 bB	7808 cB	3200 dC	1728 cC	
A07	5088 bB	11616 cA	4480 dB	3648 cB	4832 cB	1728 dC	672 dD	
A08	672 cB	608 eB	4320 dA	352 dB	448 dB	608 eB	192 eB	
A09	704 cB	576 eB	3584 dA	192 eC	576 dB	416 eB	128 eC	
A10	928 cB	1504 dB	8544 cA	3584 cA	672 dB	672 eB	864 dB	

Populações	Genótipos (Experimento 2)							
	TMG 115 RR	BRS/MT Pintado	DT 2000	Bragg	BRS 316 RR	Centennial	PI 595099	
A01	111456 aA*	111520 aA	92576 aA	102208 aA	65824 bA	50624 bB	20736 bC	
A02	78880 aA	106432 aA	150976 aA	94432 aA	69248 bA	77312 bA	29568 bB	
A03	78688 aA	126464 aA	124512 aA	127424 aA	157920 aA	151200 aA	93312 aA	
A04	26976 bA	48608 bA	10272 cB	26144 bA	16064 cB	12768 cB	2208 cC	
A05	8704 cC	12512 cB	50336 bA	9792 cB	11136 cB	2976 dD	2496 cD	
A06	16896 bB	22752 bA	46816 bA	8832 cB	16000 cB	8800 cB	2816 cC	
A07	2560 dB	8960 cA	11392 cA	4960 cA	6368 cA	1088 eB	832 dB	
A08	2496 dB	2080 dB	12896 cA	640 eC	960 eC	416 fD	864 dC	
A09	1056 eB	832 eB	5888 cA	928 eB	1664 eB	608 fB	512 dB	
A10	2368 dB	2720 dB	22816 cA	2912 dB	2816 dB	448 fC	608 dC	

\*Médias seguidas de letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre de acordo com teste Scot-Knot à 5% de significância. <sup>1</sup> Médias originais de dados transformados por  $\log(x+10)$ .

**Tabela 4.8** - Fator de Reprodução de populações de *Meloidgyne incognita* em sete genótipos de soja. Londrina, 2017.

Populações	Genótipos (Experimento 1)							
	TMG 115 RR	BRS/MT Pintado	DT 2000	Bragg	BRS 316 RR	Centennial	PI 595099	
A01	18,75 bA*	15,68 abAB	19,3 bA	14,14 bABC	8,34 bBC	5,82 bC	20,49 aA	
A02	30,29 aA	21,94 abAB	21,36 abAB	17,26 bB	13,4 abBC	7,01 bC	21,82 aA	
A03	42,34 aA	27,2 aA	34,02 aA	42,48 aA	36,43 aA	29,99 aA	27,61 aA	
A04	9,77 bA	2,62 cdeBC	4,54 cAB	3,11 cBC	2,05 cCD	0,66 cdD	2,9 bBC	
A05	2,1 cAB	7,36 bcdA	1,21 dAB	1,62 cdAB	0,7 dB	0,92 cAB	1,63 bAB	
A06	2,71 cAB	6,44 bcA	3,44 cAB	1,95 cdBC	0,8 dCD	0,43 dD	3,09 bB	
A07	2,9 cA	1,12 eBC	0,91 dBC	1,21 dAB	0,43 dBC	0,17 eC	1,27 bBC	
A08	0,15 eBC	1,08 eA	0,09 eBC	0,11 eBC	0,15 eBC	0,05 fC	0,17 cAB	
A09	0,14 eB	0,9 eA	0,05 eCD	0,14 eB	0,1 eBC	0,03 fD	0,18 cB	
A10	0,38 dBC	2,14 deA	0,9 dAB	0,17 eC	0,17 eC	0,22 eC	0,23 cC	

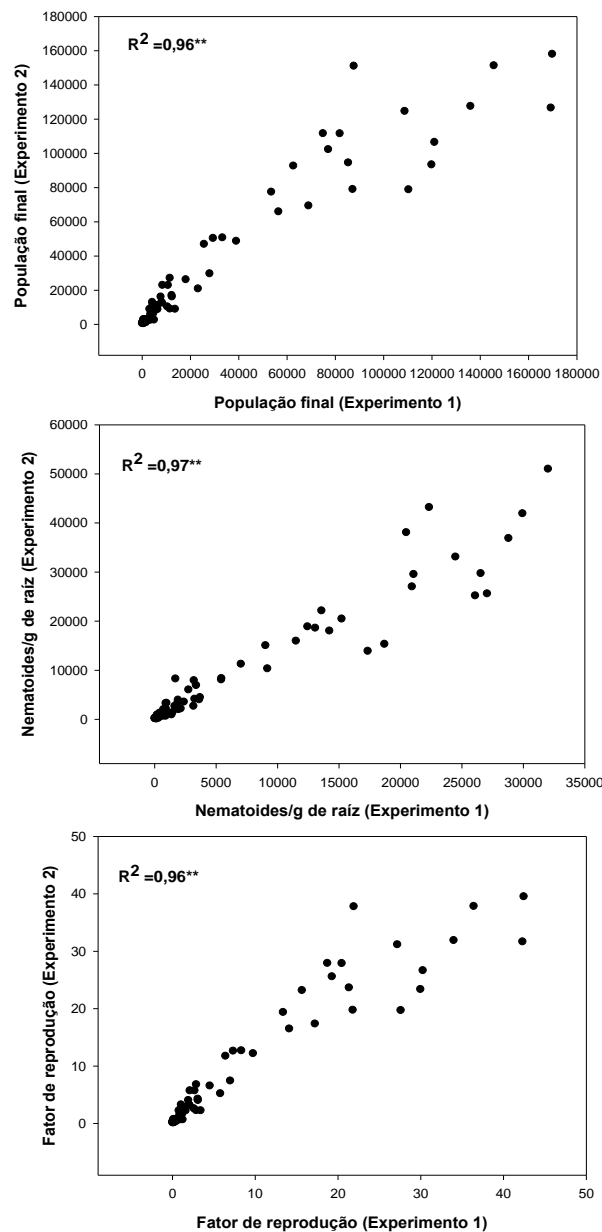
  

Populações	Genótipos (Experimento 2)							
	TMG 115 RR	BRS/MT Pintado	DT 2000	Bragg	BRS 316 RR	Centennial	PI 595099	
A01	27,86 aA*	27,88 aA	23,14 abA	25,55 aA	16,46 b	12,66 bBC	5,18 bC	
A02	19,72 aBC	26,61 aAB	37,74 aA	23,61 aBC	17,31 bCD	19,33 bBC	7,39 abD	
A03	19,67 aA	31,62 aA	31,13 aA	31,86 aA	39,48 aA	37,8 aA	23,33 aA	
A04	6,74 bAB	12,15 bA	2,57 bcC	6,54 bAB	4,02 cB	3,19 cBC	0,55 cD	
A05	2,18 bB	3,13 cB	12,58 cdA	2,45 cB	2,78 cdB	0,74 dD	0,62 cD	
A06	4,22 bcBC	5,69 cdB	11,7 deA	2,21 cBC	4 cBC	2,2 cBC	0,7 cD	
A07	0,64 cdCD	2,24 dA	2,85 eA	1,24 dBC	1,59 dAB	0,27 eD	0,21 dC	
A08	0,62 dB	0,52 eB	3,22 efA	0,16 fCD	0,24 fBC	0,1 fD	0,22 dCD	
A09	0,26 dB	0,21 efB	1,47 efA	0,23 efB	0,42 efB	0,15 fB	0,13 dB	
A10	0,59 dB	0,68 fB	5,7 fA	0,73 deB	0,7 eB	0,11 fC	0,15 dC	

\*Médias seguidas de letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si de acordo com a estatística do teste fdr.

A análise de Spearman mostrou correlação significativa e positiva (acima de 95%) entre as variáveis PF, Nem/g e FR, o que comprova a repetibilidade dos resultados entre os dois experimentos, dessa forma, o padrão de multiplicação do nematoide observado nos genótipos de soja pode ser atribuído às características inerentes para cada população (Figura 4.2).

**Figura 4.2** - Correlação de Spearman entre as variáveis resposta (População Final, Nematóide/g de raiz e Fator de Reprodução) de dois experimentos, com dez populações de *Meloidogyne incognita* em sete genótipos de soja. Londrina, 2017.



#### 4.6 DISCUSSÃO

A predominância da raça 3 observada neste estudo, também, já foi apontada para diferentes culturas em regiões do Ceará (SILVA; SANTOS; SILVA, 2016) e na região noroeste do Paraná (PIRES et al., 2008). Também, na cultura do algodão a raça 3 parece ser de ocorrência mais natural no Brasil (CARNEIRO et al., 1990). Já para a cultura da soja, as raças 3 e 4 foram apontadas como as mais importantes (MENDES; RODRIGUEZ, 2000). Neste trabalho, as três populações mais agressivas (01, A02 e A03) de fato apresentaram o perfil fisiológico de raça 3. Contudo, outras populações pouco agressivas, como a A04, A05 e A06 e A08, também, foram caracterizadas como raça 3. Já as populações A07, A09 e A010, embora todas tenham sido pouco agressivas, não pertencem a mesma raça. Assim, pode-se inferir que há diferença de agressividade entre diferentes populações do nematoide para uma determinada cultura, mesmo que estas apresentem um mesmo perfil fisiológico, de acordo com o teste de hospedeiros diferenciais.

A utilização da terminologia de raças para o nematoide de galhas não é mais recomendada (MOENS; PERRY E STARR, 2009), além de nunca ter sido amplamente aceita entre os nematologistas, pois o teste utilizado para a sua identificação mede uma variabilidade que pode ser restrita e não se aplicar a todas as culturas da mesma forma, pois populações que não se encaixaram a esse esquema de raças já foram relatadas para outras culturas e países (STANTON; O'DONELL, 1998; ROBERTSON; DIEZ-ROJO, 2009).

Embora a variabilidade fisiológica entre diferentes populações seja comprovada e de grande importância nos programas de melhoramento genético, são necessários mais estudos para esclarecer como diferentes fatores podem estar relacionados aos mecanismos de variabilidade entre elas. Assim, a forma de obtenção do inóculo, também, pode estar diretamente relacionada. Como exemplo, as populações A07 à A010 foram obtidas a partir de uma única massa de ovos, o que pode ter acarretado na diminuição de sua variabilidade genética. Além disso, a manutenção do nematoide em plantas diferentes daquela em que será inoculada para estudos pode resultar em sua menor especialização à cultura. A perda da virulência de *M. incognita* ao cafeeiro, após ser sucessivamente multiplicado em tomateiro foi mostrada por Carneiro e Jorge (2001) e Oliveira et al. (2009).

Devido ao modo de reprodução de *M. incognita* ser por partenogênese mitótica obrigatória, teoricamente, as populações deveriam apresentar uma estabilidade genética mais forte, contudo, o oposto foi observado no presente estudo, resultando em capacidade de reprodução distinta em uma mesma espécie vegetal quando estas diferentes populações foram inoculadas. Foi sugerido que mutações em indivíduos estivessem envolvidas nessa mudança de fenótipo (TRANTAPHYLLOU, 1985), mas com a disponibilidade do genoma completo de *M. incognita* (ABAD et al., 2008), os estudos revelam que diferentes mecanismos podem estar envolvidos nesta complexa relação (LUNT, 2008; CASTAGANONE-SERENO, 2013).

Divergência entre regiões genômicas à duplicação de famílias de genes e a presença de genes restritos exclusivamente a algumas espécie do gênero *Meloidogyne*, a presença de muitos genes que codificam para enzimas relacionadas à degradação de parede celular, adquiridas possivelmente via transferência horizontal de genes, podem estar relacionados aos mecanismos de patogenicidade. Citados como possíveis causas o acúmulo de mutações anteriores, genes ortólogos e/ou hibridização interespecífica (LUNT, 2008; CASTAGANONE-SERENO, 2013).

A variabilidade pode estar, também, diretamente relacionada com o arranjo cromossomal do nematoide (CASTAGNONE-SERENO et al., 2013), pois contradizendo a definição do que seria uma espécie, as populações de *M. incognita* foram descritas com diferentes números de cromossomos (TRANTAPHYLLOU, 1985). Nos cromossomos holocêntricos de *M. incognita*, a atividade cinetocórica está distribuída ao longo de quase todo o seu comprimento (MELTERS, 2012), e essa organização centromérica permite que fragmentos gerados de quebras ou fusões mantenham sua viabilidade e gerem variações numéricas e estruturais estáveis, em uma rápida escala de tempo (SANTOS, 2016). Se essas variações não forem eliminadas pela seleção natural, serão passadas para as gerações futuras do nematoide, uma vez que os descendentes são clones.

As características de cada população podem ainda ter diferentes origens para cada uma delas, apresentando uma combinação desses fatores, que são capazes de gerar o nível de variabilidade de fenótipos observado. Enquanto não se esclarecem esses mecanismos, as linhagens devem ser testadas para tantas populações quanto for possível, afim de minimizar ou retardar a chance de superação da resistência da planta no campo.

#### 4.7 CONCLUSÃO

As populações A01, A02 e A03 foram mais agressivas aos genótipos de soja que as demais. A raça 3 foi predominante entre elas, mas não houve correlação do perfil fisiológico nas plantas diferenciadoras com a agressividade observada na soja.

## 5 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES GERAIS

Em relação às metodologias de avaliação de resistência de soja ao nematoide de galhas, conclui-se que: não é recomendada a avaliação de ensaios aos 30 dias após a inoculação (DAI). O nível de 1000 nematoides por planta, aos 45 ou 60 DAI, são as combinações mais adequadas para a mensuração do Fator de Reprodução do nematoide e avaliação do Índice de Galhas, quando ambos os parâmetros necessitam ser estudados. Há correlação positiva entre o Índice de Galhas e Fator de Reprodução.

A respeito da avaliação da agressividade de *M. incognita* nos genótipos de soja, conclui-se que as populações A01, A02 e A03 são as mais agressivas, com destaque para esta última, que apresentou abundante multiplicação do nematoide em todos os genótipos. As populações mais agressivas pertenceram a raça 3, que foi predominante neste trabalho. Contudo, não há correlação entre a raça com a agressividade das populações nos genótipos de soja.

Frente à variabilidade na capacidade parasitária do nematoide observada, se faz necessária a constante revisão, otimização e atualização de processos metodológicos, afim de garantir resultados tão fiéis quanto possível à dinâmica das populações do nematoide em seu ambiente natural. Estudos moleculares poderão levar o conhecimento sobre esses organismos muito além do que é de domínio atual, esclarecendo como o genoma de *M. incognita* evolui e se adequa às diferentes condições a que é exposto. Contudo, se somente as fontes de resistência conhecidas continuarem sendo utilizadas para o manejo de *M. incognita*, as cultivares disponibilizadas terão um curto período útil.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD, P. et al. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. **Nature Biotechnololy**. v. 26, n. 8, p.909–915, 2008.
- ABAD, P.; GOUZY, J.; AURY, J. M.; CASTAGNONE-SERENO, P.; DANCHIN, E. G. J. et al. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. **Nature Biotechnology**. v. 8, p.909–915, 2008.
- ABAD. P.; FAVERY, B.; ROSSO, M. N.; CASTAGNONE-SERENO, P. Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. **Molecular Plant Pathology**. v.4, p. 217–224, 2003.
- ABIOVE. Cadeia Produtiva de Oleaginosas e Biodiesel: Importância Econômica e Social. Disponível em: <<http://www.abiove.org.br/site/index.php?page=importancia-economica-e-social&area=NC0yLTI=>> Acesso 21 agosto 2016.
- AGRIOS, J. N. **Plant Pathology**. New York: Academic Press, 1988. 803 p.
- ALMEIDA, A. A.; RIBEIRO, N. R.; CARDOSO, M. R.; SANTIAGO, D. C. Reação de *Crotalaria* spp. a *Heterodera glycines* em função da idade da muda e época de avaliação. In: **Congresso Brasileiro de Nematologia**, 33. 2016. Petrolina – RE. **Resumos...** Petrolina:SBN, 2016.
- ALMEIDA, L. A.; KIIHL, R. A.; MIRANDA, M. A. C.; CAMPELO, G. J. A. Melhoramento da Soja para regiões de baixas latitudes. In: QUEIRÓZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R., ed. **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**. (on line). Petrolina – PE: Embrapa Semi-Árido/ Brasília- DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999.
- ALVES, F. R.; CAMPOS, V. P. Efeito do aquecimento do solo na resistência de plantas a *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* raça 3. **Nematologia Brasileira**. v. 25, n. 2, p. 153-162, 2001.
- ANDREAZI, E.; SERA, G. H.; FARIA, R. T.; SERA, T.; FONSEA, I. C. B.; MACHADO, A. C. Z.; SHIGUEOKA, L. H.; CARVALHO, F. G.; CARDUCCI, F. C. Behavior of 'IPR 100' and 'Apoatã IAC 2258' coffee cultivars under different infestation levels of *Meloidogyne paranaensis* inoculum. **Australasian Journal of Crop Science**. v. 9, n. 11, p. 1069-1074, 2015.
- ANTONIO, H. Fitonematoides na cultura da Soja. Informe Agropecuário, 16(172), p. 60-65, 1992. ANTONIO, H.; DALL'AGNOL, A. Avaliação de resistência a *Meloidogyne arenaria* nas cultivares de soja recomendada no Brasil em 1980. In: **REUNIÃO BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA**, 6. Piracicaba. Resumos... Piracicaba: SBN, 1982. P. 33-41.

ANTONIO, H.; DALL'AGNOL, A. Efeito de tamanhos de vasos, métodos de inoculação e níveis de inóculo sobre a formação de galhas de *Meloidogyne incognita* em soja. In: **SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA**, 3. Campinas. Anais... Londrina: Embrapa-CNPSo, 1984 (Embrapa Soja. Documentos, 7).

ARKHIPOVA, I.; MESELSON, M. 2000. Transposable elements in sexual and ancient asexual taxa. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. USA 97:14473–77.

ASMUS, G. L. Danos Causados à Cultura da Soja por Nematoides do Gênero *Meloidogyne*. In: SILVA, J. F. V (organizador). **Relações Parasito-Hospedeiro nas Meloidoginoses da Soja**. Londrina: Embrapa Soja: Sociedade Brasileira de Nematologia. 2001. p. 39-61.

BLOK, V. C.; POWERS, T. O. 2009. Biochemical and molecular identification. IN: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L.(eds). **Root-Knot Nematodes**. CABI Publishing. 2009, p. 98-118.

BOERMA, H. R.; HUSSEY, R. S. Breeding Plants for Resistance to Nematodes. **Journal of Nematology**. v. 24, n. 2, p. 242-252, 1992.

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

BONETTI, L. P. Distribuição da Soja no Mundo. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. **A Soja no Brasil**. (1ª ed). 1981, p. 1-6.

CABASAN, M. T. N.; BELLAFFIORE, S.; KUMAR, A.; DE WAELE, D. The effect of temperature on resistance in African rice (*Oryza glaberrima* Steud.) genotypes to the rice root-knot nematode *Meloidogyne graminicola*. **Nematropica**. V. 46, n. 2, p. 221-228, 2016.

CALVO, E. S.; KIIHL, R. A. S. Melhoramento genético: de onde partimos e para onde vamos. **Visão Agrícola**. Piracicaba. n. 5, p. 50-53, 2006.

CAMARGO, L. E. A. Controle Genético. In: AMORIM, L.; REZENDEM J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. (4ª ed). Piracicaba: Ed. Ceres, p. 325-341, 2011.

CAMPOS, H. D.; CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A. Efeito da temperatura na multiplicação celular, no desenvolvimento embrionário e na eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica*. **Summa Phytopatologica**. v. 34, n. 1, p. 29-33, 2008.

CAMPOS, H. D.; SILVA, J. R. C.; CAMPOS, V. P.; SILVA, L. H. C. P. da COSTA, L. S. A. S.; SILVA, W. J. R. da. Efeito da temperatura do solo na infectividade e reprodução de *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines* em cultivares de soja. **Ciência e Agrotecnologia**. [online]. Lavras. v.35, n. 5, p. 900- 907, 2011.

CANTO-SÁENZ, M. The nature of resistance to *Meloidogyne incognita*. In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. **An advanced treatise on *Meloidogyne***. Vol1: biology and control. Raleigh, NC, USA: North Carolina State University Graphics, 1985. p. 225-231.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A. Caracterização isoenzimática e variabilidade intraespecífica dos nematoides de galhas do cafeeiro no Brasil. In: **Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Poços de Caldas** (Resumos). P. 280-282, 2000.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; CARNEIRO, R. G. Enzyme phenotypes of Brazilian isolates of *Meloidogyne* spp. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 19, p. 555-560, 1996.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; MARTINS, I.; SOUZA, J. F.; PIRES, A. Q.; TIGANO, M. Ocorrência de *Meloidogyne* spp. e Fungos Nematófagos em Hortaliças no Distrito Federal, Brasil. **Nematologia Brasileira**. v.32, n. 2, p. 135-141, 2008.

CARNEIRO, R. M. D. G.; JORGE, C. L. Seletividade Fisiológica de Populações de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne paranaensis* quando Multiplicadas Durante Sucessivas Gerações em Tomateiros e Cafeeiros. IN: II **Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**. Anais do II Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. 2001, pp 1205-1209. Disponível em: <<http://www.consorciopesquisacafe.com.br/index.php/consorcio/separador2/simposio-de-pesquisa-dos-cafes-do-brasil/543-anais-do-ii-simposio-de-pesquisa-dos-cafes-do-brasil>>. Acesso em 06 dez de 2017.

CARNEIRO, R. M. D. G.; RANDING, O.; ALMEIDA, M. R. A.; GONÇALVES, W. Identificação e Caracterização de Espécies de *Meloidogyne* em Cafeeiro nos Estados de São Paulo e Minas Gerais Através dos Fenótipos de Esterase e SCAR-Multiplex-PCR. **Nematologia Brasileira**, v. 5, n. 2, p 233-241, 2005.

CARNEIRO, R. M. D. G.; TIGANO, M. S.; RANDING, O.; ALMEIDA, M. R. A.; SARAH, J. L. Identification and genetic diversity of *Meloidogyne* spp. (Tylenchida: Meloidogynidae) on coffee from Brazil, Central America and Hawaii. **Nematology**. v. 6, p. 287-298, 2004.

CARNEIRO, R.G., H. ANTONIO, J.A. BRITO, A.A.K. ALTEIA. (1990). Identificação de espécies e raças fisiológicas de *Meloidogyne incognita* na região Noroeste do estado do Paraná: resultados preliminares. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, XIV, Londrina. Resumos, p. 4.

CASTAGNONE-SERENO P. Genetic variability and adaptive evolution in parthenogenetic root-knot nematodes. **Heredity** 96:282–89., 2006

CASTAGNONE-SERENO, P. Genetic variability of nematodes: a threat to the durability of plant resistance genes?. **Euphytica**. n. 124, p. 193-199, 2002.

- CASTAGNONE-SERENO, P.; DANCHIN, E.G.J.; PERFUS-BARBEOCH, L.; ABAD, P. Diversity and Evolution of Root-Knot Nematodes, Genus *Meloidogyne*: New Insights from the Genomic Era. **Annual Review Phytopathology**, California, v. 51:203–220, 2013.
- CASTAGNONE-SERENO, P.; SEMBLAT, J. P.; CASTAGNONE, C. Modular architecture and evolution of the *map-1* gene family in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Molecular Genetics and Genomics**. v. 282, n. 5, p.547–554, 2009.
- CASTRO, J. M. C. **Caracterização de populações de *Meloidogyne* spp. de regiões brasileiras produtoras de soja**. Viçosa: UFV, 2001. 82p. (Tese de Doutorado).
- CASTRO, J. M. C.; LIMA, R. D.; CARNEIRO, R. M. D. G. Variabilidade isoenzimática de populações de *Meloidogyne* spp. de regiões brasileiras de soja. **Nematologia Brasileira**. v, 27, p. 1-12, 2003.
- CENIS, J. L. Identification of four major *Meloidogyne* spp. by random amplified polymorphic DNA (RAPD-PCR). **Phytopathology**, v. 83, p. 76-80, 1993.
- COFCEWICZ, E. T.; CARNEIRO, R. M. G. D.; CASTAGNONE-SERENO, P.; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotypes and genetic diversity of root-knot nematodes parasitizing *Musa* in Brasil. **Nematology**, 6(1): 85-95, 2004.
- COFCEWICZ, E. T.; CARNEIRO, R. M. G. D.; RANDING, C.; CHABRIER, C.; QUÉNÉHERVÉ, P. Diversity of *Meloidogyne* spp. on bananas in Martinique, Guadeloupe and French Guiane. **Journal of Nematology**, 37(3), p. 313-322, 2005.
- COLLANGE B., NAVARRETE D., PEYER G., MATEILLE T., TCHAMITCHIAN M. Root-knot nematode (*Meloidogyne*) management in vegetable crop production: the challenge of an agronomic system analysis. *Crop Protection*. v.30, p.1251–1262, 2011.
- COOK, R.; EVANS, K. Resistance and tolerance. In: BROWN, R. H.; KERRY, B. R. (Ed.) **Principles and Practice of Nematode Control in Crops**. New York: Academic Press. 1987. p. 179-231.
- CORTE, G. D.; PINTO, F. F.; STEFANELLO, M. T.; GULART, C.; RAMOS, J. T.; BALARDIN, 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.
- DAVIS, E. L.; MEYERS, D. M.; BURTON, J. W.; BARKER, K. R. Resistance to root-not, reniform, and soybean cyst nematodes in selected soybean breeding lines. **Journal of Nematology**. v. 30, p. 530-541, 1998.
- DEVTRAN, Z.; SOGUT, M. A.; MUTLU, N. Responde of tomato rootstocks with the Mi resistance gene to *Meloidogyne incognita* race 2 at differential soil temperature. **Phytopathologia Mediterranea**. v. 49, p. 11-17, 2010.

DIAS, V. P.; GARCIA, A.; SILVA, J. F. V.; CARNEIRO, G. E.S. **Nematoides em soja: Identificação e Controle**. Londrina: Embrapa Soja, 2010, 8p (Circular Técnica 76). Disponível em: < [http://www.cnpso.embrapa.br/download/CT76\\_eletronica.pdf](http://www.cnpso.embrapa.br/download/CT76_eletronica.pdf)>. Acesso em: 20 maio 2018.

DIAS, W. P.; FREITAS, V. M.; RIBEIRO, N. R.; MOITA, A. W.; HOMECHIN, M.; PARPINELLI, N. M. B.; CARNEIRO, M. D. G. Reação de genótipos de soja *Meloidogyne enterolobii* e *Meloidogyne ethiopica*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 34, n. 4, p. 220-225, 2010.

DIAS, W. Reação ao nematoide de galhas (*Meloidogyne incognita*). IN: Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de soja (*glycine max* (L.) Merrill). MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Serviço Nacional de Proteção de Cultivares – SNPC. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/registros-autorizacoes/protecao-cultivares/formularios-protecao-cultivares> >. Acesso em: 15 agosto 2016.

DROPKIN, V. H.; WEBB, R. E. Resistance of axenic tomato seedlings to *Meloidogyne incognita acrita* and to *M. hapla*. **Phytopathology**. v. 57, p. 584-587, 1967.

EISENBACK, J. D.; TRIANTAPHYLLOU, H. H. Root-Knot nematodes: *Meloidogyne* species and races. In: NICKLE, W. R. (Ed). **Manual of Agricultural Nematology**. New York: M. Kekker, 1991, p. 191-274.

EMBRAPA. Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2004. Londrina: Embrapa Soja; Embrapa Agropecuária Oeste; Embrapa Cerrados; EPAMIG: Fundação Triângulo, 2003. 237p. (Sistemas de Produção/Embrapa Soja; n. 4).

ESBENSHADE, P. R.; TRINTAPHYLLOU, A. C. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species (Nematoda: Tylenchida). **Journal of Nematology**, v. 17, n. 1, p. 6-20, 1985.

FASSULIOTIS, G. Resistance of *Cucumis* spp. to the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita acrita*. **Journal of Nematology**. v. 2, p.1174-178. 1970.

FERNANDEZ, L.; CABASAN, M. T. N.; DE WAELE, D. Life cycle of the rice root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* at different temperatures under non-flooded and flooded conditions. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**. v. 47, p. 1042-1049, 2013.

FERRAZ, L. C. B. As Meloidoginoses da Soja: Passado, Presente e Futuro. In: SILVA, J. F. V (organizador). **Relações Parasito-Hospedeiro nas Meloidoginoses da Soja**. Londrina: Embrapa Soja; Sociedade Brasileira de Nematologia. 2001. p. 15-38.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematóides. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. (4ª ed). São Paulo: Agronômica Ceres.Piracicaba. v. 1, cap. 13, p. 277-305, 2011.

FERRAZ, S.; MENDES, M. L. O nematoide das galhas. **Informe Agropecuário**, v. 172, p. 37-42, 1992.

FIESP. Safra Mundial de Soja 2017/18 – 9º Levantamento do USDA. Informativo DEAGRO, janeiro de 2018. Disponível em <<http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-soja/attachment/file-20180115113655-boletimsojajaneiro2018/>>. Acesso em janeiro de 2018

FOURIE, H.; MC DONALD, A. H.; DE WAELE, D. Host and Yield responses of soybean genotypes resistant or susceptible to *Meloidogyne incognita* in vivo. **International journal of Pest Management**. v. 59, n. 2, p. 111-121, 2013.

FOURIE, H.; MC DONALD, A. H.; DE WAELE, D. Relationships between initial population densities of *Meloidogyne incognita* race 2 and nematode population development in terms of variable soybean resistance. **Journal of Nematology**. v. 42, n. 1, p. 55-61, 2010.

GRAY, Y. H. It takes two transposons to tango: Transposable-element-mediated chromosomal rearrangements. **Trends Genetics**. v.16, n. 10, p. 461–468, 2000.

GRIGOLLI, José Fernando Jurca; ASMUS, Guilherme Lafourcade. **Manejo de nematoides na cultura da soja**. Tecnologia & Produção de soja 2014/2015, Fundação MS. Disponível em: <<http://www.fundacaoms.org.br/base/www/fundacaoms.org.br/media/attachments/215/215/newarchive-215.pdf>> Acesso em: 16 mai. 2017.

GROSS, S. M.; WILLIAMSON, V. M. 2011. *Tm1: a mutator/foldback* transposable element family in root-knot nematodes. **Plos One**. v.6, n. 9, e24534, 2011.

HA, B. K.; BENNETT, J. B.; HUSSEY, R. S.; FINNERTY, S. L.; BOERMA, H. R. Pedigree analysis of a major QTL conditioning soybean resistance to southern root-knot nematode. **Crop Science**. v. 44, p. 758–763, 2004.

HARTMAN, K. M.; SASSER, J. N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology. In: K. R. Barker, C. C. Carter, and J. N. Sasser, eds. **An advanced treatise on *Meloidogyne*, vol. 1. Biology and Control**. North Carolina State University Graphics, Raleigh. 1985, p. 69-76.

HERMAN, M.; HUSSEY, R. S.; BOERMA, H. R. Penetration and Development of *Meloidogyne incognita* on roots of resistant soybean genotypes. **Journal of Nematology**. v.23, n. 2, p. 155-161, 1991.

HUSSAIN, M. A.; FATIMA, I.; MUKHTAR, T.; ASLAM, M. N.; KAYANI, M. Z. Effect of inoculum density of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on damage potential in eggplant. *Mycopathologia*. v, 13 n. 1, p. 33-36, 2015.

HUSSAIN, M. A.; MUKHTAR, T.; KAYANI, M. Z. Assessment of the damage caused by *Meloidogyne incognita* on Okra (*Abelmoschus esculentus*). *The Journal of Animal and Plant Sciences*. v. 21, n. 4, p. 857-861, 2011.

HUSSEY, R. S.; BOERMA, H. R. A greenhouse screening procedure for root-knot nematodes resistance in soybean. **Crop Science**. V. 21, p. 7940796, 1981.

HUSSEY, R. S.; JANSSEN, G. J. W. Root-knot nematode: *Meloidogyne* species. In: STARR, J. L.; COOK, R.; BRIDGE, J. (Eds.) **Plant Resistance to Parasitic Nematodes**. Wallingford, UK: CAB International. 2001, p.43–70.

JAFFE, B. A.; MAI, W. F. Growth reduction of apple seedlings by *Pratylenchus penetrans* as influenced by seedling age at inoculation. **Journal of Nematology**. v, 11, n. 2, p. 161-165, 1979.

JONES, J. T.; HAEGEMAN, A.; ETIENNE G. J. DANCHIN, E. G. J.; GAUR, H. S.; HELDER, J.; JONES, M. G. K.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.; PALOMARES-RIUS, J. E.; WESEMAEL, W. M. L.; PERRY, R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, 14(9), p. 946-961, 2013.

JONES, J.T.; GHEYSEN, G.; FENOLL, C. (Eds.), **Genomics and Molecular Genetics of Plant-nematode Interactions**. Springer, Heidelberg 2011, pp. 21–43.

JUNG, C.; WYSS, U. New approaches to control plant parasitic nematodes. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 51, p. 439-446, 1999.

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

KARSSSEN, G.; MOENS, M. Root-knot nematodes. In: PERRY, R.L.; MOENS, M. (Ed.) **Plant nematology**, Cambridge, MA, USA, CABI America Office. 2006, p. 59-90.

KASTER, M.; QUEIROZ, E. F.; TERESAWA, F. Introdução e Evolução da Soja no Brasil: No Estado do Paraná. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. **A Soja no Brasil**. (1ª ed). 1981, p. 22-24.

KATJU, V.; LYNCH, M. On the formation of novel genes by duplication on *Caenorhabditis elegans* genome. **Molecular Biology end Evolution**. v.23, n. 5, p. 1056-1057, 2006.

KAYANI, M, Z.; MUKHTAR, T.; HUSSAIN, M. A. Interaction between nematode inculum densitie and plant age and growth and yield of cucumber and reproduction of *Meloidogyne incognita*. **Pakistan Journal of Zoology**. v. 50, n. 3, p. 897-902, 2018.

KAYANI, M. Z.; MUKHTAR, T.; HUSSAIN, M. A. Effects of southern root knot nematodes population densities and plant age on growth and yield parameters of cucumber. **Crop Protection**. v. 92, p. 207-212, 2017.

KIDWELL, M. G.; LISCH, D. R. Transposable elements and host genome evolution. **Trends in Ecology and Evolution**. v. 15, n. 3, p.95–99, 2000.

KIM, K-S.; VUONG, T. D.; QIU, D.; ROBBINS, R. T.; SHANNON, J. G.; LI, Z.; NGUYEN, H. T. Advances in breeding, genetics, and genomics for resistance to three nematode species in soybean. **Theoretical and Applied Genetics**. v. 129, n. 12, p. 2295-2311, 2016.

KINLOCH, R. A. Comparative Root-Knot galling and yield responses of soybean cultivars to *Meloidogyne incognita*. **Plant Disease**. v.69, p. 334-336, 1985.

KINLOCH, R. A. Screening for resistance to root-knot nematodes. In: STARR, J. L. **Methods for evaluating plant species for resistance to plant-parasitic nematodes**. Maryland: Society of Nematologists, 1990. p. 16-23.

KINLOCH, R. A.; HINSON, K. The Florida program for evaluating soybean (*Glycine max* L. Merr.) genotypes for susceptibility to root-knot nematode disease. **Proceedings of the Soil and Crop Science Society of Florida**, v. 32, p. 173-176, 1972.

LEE JD, KIM HK, ROBBINS RT, WRATHER JA, BOND J, NGUYEN HT, SHANNON JG (2015) Reaction of soybean cyst nematode resistant plant introductions to root-knot and reniform nematodes. **Plant Breeding and Biotechnology**. v. 3, n. 4, p. 346–354, 2015.

LIMA-MEDINA, I.; GOMES, C. B.; ROSSI, C. E.; CARNEIRO, R. M. D. G. Caracterização isoenzimática e biológica de populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de figueira do Rio Grande do Sul e São Paulo. **Nematologia Brasileira**, v. 30, p. 179-188, 2006.

LIMA-MEDINA, I.; GOMES, C. B.; ROSSI, C. E.; CARNEIRO, R. M. D. G. Caracterização isoenzimática e biológica de populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de figueira do Rio Grande do Sul e São Paulo. **Nematologia Brasileira**, v. 30, p. 179-188, 2006.

LORDELLO, L. G. E. **Nematoides das plantas cultivadas**. 7 ed. São Paulo: Nobel, 1982. 314p.

LORDELLO, L. G. E. **Nematoides das plantas cultivadas**. 8ª ed. São Paulo: Editora Nobel, 1992, 314 p.

LUNT, D. H. Genetic tests of ancient asexuality in root knot nematodes reveal recent hybrid origin. **BMC Evolutionary Biology**. v. 8, p.194, 2008.

LUZZI, B. M.; BOERMA, H. R.; HUSSEY, R. S.; Inheritance of resistance to the southern root-knot nematode in soybean. **Crop Science**, Madison, n.34, p. 1240-1243, 1994.

LUZZI, B. M.; BOERMA, H. R.; HUSSEY, R. S.; PHILLIPS, D.V.; TAMULONIS, J.; FINNERTY, S.L; WOOD, E. D. Registration of Javanese root-knot nematode resistant soybean germoplasm line G93-9223. **Crop Science**, Madison, n.37, p.1372-1375, 1997.

LUZZI, B.M., H.R. BOERMA & R.S. HUSSEY. Resistance to three species of root-knot nematode in soybean. **Crop Science**, v. 27, p. 258-262, 1987.

MALEITA, C. M. N.; CURTIS, R. H. C.; POWERS, S. J.; ABRANTES, I. M. O. Inoculum levels of *Meloidogyne hispanica* and *M. javanica* affect nematode reproduction, and growth of tomato genotypes. **Phytopathologia Mediterranea**. V. 51, n. 3, p. 566-576, 2012.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Protocolos para avaliação de reação às doenças em soja**. Serviço Nacional de Proteção de Cultivares – SNPC. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/registros-autorizacoes/protecao-cultivares/formularios-protecao-cultivares> >. Acesso em: 15 agosto 2016.

McCLURE, M. A.; ELLIS, K. C.; MIGH, E. L. Post-infection development and histopathology of *Meloidogyne incognita* in resistant cotton. **Journal of Nematology**. v, 6, n. 1, p. 21-26, 1979.

MEDINA, J. C. Introdução e Evolução da Soja no Brasil: Primeiras Notícias da Soja no Brasil. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. **A Soja no Brasil**. (1ª ed). 1981, p. 17

MELTERS, D. P.; PALIULIS, L.V.; KORF, I. F.; CHAN, S. W. L. Holocentric chromosomes: convergent evolution, meiotic adaptations, and genomic analysis. **Chromosome Research**. v. 20, n. 5, p. 579-593, 2012.

MENDES, M. L.; CAMILO, O. C.; VICENTE, F. R.; RODRIGUEZ, P. B. N. Reação de genótipos de soja a *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. **Nematologia Brasileira**, v. 25, p.89-93, 2001.

MENDES, M. L.; RODRIGUEZ, P. B. N. Reação de cultivares de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] aos nematóides de galhas *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* raças 1, 2, 3 e 4. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 211-217, 2000.

MIRANDA, D. M.; FAVORETO, L.; RIBEIRO, N. R. Nematóides – um desafio constante. Boletim de Pesquisa da Soja 2011, Rondonópolis, n. 15, p. 400-414, 2011

MOENS, M.; PERRY, R. N. STARR, J. L. *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and importante plant parasites. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. ds. **Root-knot Nematodes**. Cambridge, MA, USA, CABI North AMercia Office, 2009, p. 1-17.

MOURA, R. M. Gênero *Meloidogyne* e a Meloidoginose. Parte I. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. V. 4, p. 209-244, 1996.

MOURA, R. M. M.; RÉGIS, E. M. O. Reações de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) em relação ao parasitismo de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* (Nematoda: Heteroderidae). **Nematologia Brasileira**. v, 11, p. 215-225, 1987.

MOURA, R. M.; DAVIS, E. L.; LUZZI, B. M.; BOERMA, H.R.; HUSSEY, R.S. Postinfectious development of *Meloidogyne incognita* on susceptible and resistant soybean genotypes. **Nematropica**. v. 23, n. 1, p. 7–13, 1993.

NARDACCI, J. F.; BARKER, K. R. The influence of temperature on *Meloidogyne incognita* on Soybean. **Journal of Nematology**. V. 11, n. 1, p. 62-70, 1979.

NIBLACK, T. L.; HUSSEY, R. S.; BOERMA, H. R. Effects of environments, *Meloidogyne incognita* inoculum levels, and *Glycine max* genotype on Root-Knot nematode-soybean interactions in field microplots. **Journal of Nematology**. v.18, n. 3, p. 338-346, 1986.

NICOL J.M.; TURNER S.J.; COYNE D.L.; NIJS L.; HOCKLAND S.; MAAFI Z.T. Current Nematode Threats to World Agriculture. In: JONES J., GHEYSEN G., FENOLL C. (eds) **Genomics and Molecular Genetics of Plant-Nematode Interactions**. Springer, Dordrecht, 2011, pp 21-43.

OLIVEIRA, D. S.; OLIVEIRA, R. D.L; GONÇALVES, W. Frótipo S1 de Esterase em *Meloidogyne incognita* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31. n. 2. p. 207, 2006.

OLIVEIRA, L. A.; VINHOLES, P.; MONTECELLI, T. D. N.; LAZZARI, F.; SCHUSTER, I. Inheritance of resistance of soybean for *Meloidogyne incognita* and Identification of Molecular Marker for Marker Assisted Selection. **Journal of Scientific Research & Reports**, n. 8. V. 3. P. 1-8, 2015.

OLIVEIRA, D. S.; OLIVEIRA, R. D. L.; SILVA, D. G.; SILVA, R. V. Falha na adaptabilidade (fitness) de *Meloidogyne incognita* ao cafeeiro. **Nematologia Brasileira**. V. 33, n. 3, p. 207-211, 2009.

OOSTENBRINK, M. Major characteristic of relation between nematodes and plants. **Mededelingen Landbouwhogeschool**, Wageningen, v. 66, n.4, p.1- 46, 1966.

PAIS, C.S. & ABRANTES, I.M.O. Esterase and malate dehydrogenase phenotypes for identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**. v. 21, n. 3, p. 342–346, 1989.

PERRY, N.; MOENS, M. **Plant Nematology**. Pondicherry: CAB International, 2006. 447 p.

PHAM, A. T.; MCNALLY, K.; ABDEL-HALEEM, H.; BOERMA, R. H.; LI, Z. (2013) Fine mapping and identification of candidate genes controlling the resistance to southern root-knot nematode in PI 96354. **Theoretical and Applied Genetics**. v. 126, n. 7, p. 1825–1838, 2013.

PIRES, E.; SANTANA, H.; NASU, E. G. C.; BELOT, J. L.; FURLANETO, C. Ocorrência de *Meloidogyne incognita* Raça 3 em Lavouras de Algodão na Região Noroeste do Paraná. **Nematologia Brasileira**.v. 32, n. 1, p. 81-83, 2008.

R Core Team (2014). R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 23 maio 2017.

RIBEIRO, N.R., **Variabilidade Intraespecífica de *Meloidogyne javanica* (Nematoda: Meloidogynedae) em soja no Brasil**. Dissertação (mestrado), Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2005. 114p.

ROBERTS, P. A. Concepts and consequences of resistance. In: STARR, J. L.; COOK, R. J.; BRIDGE, J. **Plant resistance to parasitic nematodes**. New York: CABI, 2001.

ROBERTS, P. A. Conceptual and practical aspects of variability in root-knot nematodes related to host plant resistance. **Annual Review of Phytopathology**. v. 3, p. 199-221, 1995.

ROBERTS, P. A. Current status of the availability, development, and use of host plant resistance to nematodes. **Journal of Nematology** v.24, p.213–227, 1992.

ROBERTSON L.; DÍEZ-ROJO, M. A.; LÓPEZ-PÉREZ, J. A.; PIEDRA BUENA, A.; ESCUER, M.; LÓPEZ CEPERO, J.; MARTÍNEZ, C.; BELLO, A. New host races of *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, and *M. javanica* from horticultural regions of Spain. **Plant Disease** v. 93, p.180-184, 2009.

ROBINSON, R. A. 1980. New concepts in breeding for disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**. v. 18, 1980, p. 189-210.

SANTOS, M.F.A.; FURLANETTO, C.; ALMEIDA, M.R.A.; CARNEIRO, M.D.G.; MOTA, F.C.; SILVEIRA, N.O.R.; SILVA, J.G.P.; CASTAGNONE-SERENO, P.; TIGANO, M.S. & CARNEIRO, R.M.D.G. Biometrical, biological and molecular characteristics of *Meloidogyne incognita* isolates and related species. **European Journal of Plant Pathology**. v. 134, p. 671-684, 2012.

SANTOS, T. F. S. **Metodologia de Avaliação a *Pratylenchus brachyurus* e reação de genótipos de soja aos nematoides das galhas e das lesões**. Dissertação Mestrado. Universidade Federal de Mato Grosso, 2012, 87p.

SANTOS, T. R. B. **Os cromossomos holocêntricos de *Rynchospora Vahl* (Cyperaceae): evolução cariotípica e diversidade de sequências satélites**. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2016. 91p. (Tese de Doutorado).

SCOTT, A.; KNOTT, M. Cluster-analysis method for grouping means in analysis of variance. *Biometrics*, Washington D.C., v.30, n.3, p.507-512, 1974.

SEMBLAT, J. P.; ROSSO, M. N.; HUSSEY, R. S.; ABAD, P.; CASTAGNONE-SERENO, P. Molecular cloning of a cDNA encoding an amphid-secreted putative avirulence protein from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Molecular Plant-Microbe Interactions Journal**. v. 14, p. 72–79, 2001.

SEMBLAT, J.P; BONGIOVANNI, M.; WAJNBERG, E.; DALMASSO, A.; ABAD, P.; CASTAGNONE-SERENO, P. Virulence and molecular diversity of parthenogenetic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. **Heredity**, v. 84, p. 81-89, 2000.

SERA, G. H.; SERA, T.; MATA, J. S.; ALEGRE, C. R.; FONSECA, I. C. B.; ITO, D. S.; KANAYAMA, F. S.; BARRETO, P. C. Reaction of coffee cultivars Tupi IAC 1669-33 and IPR 100 to nematode *Meloidogyne paranaensis*. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. v.9, p. 293-298, 2009.

SHANE, W. W.; BARKER, K. R. Effects of temperature, plant age, soil texture, and *Meloidogyne incognita* on Early Growth of Soybean. *Journal of Nematology*. V. 18, n. 3, p. 320-327, 1986.

SILVA, J. F. V. Resistência genética da soja a nematóides do gênero *Meloidogyne*. In: SILVA, J. F. V. **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina: Embrapa Soja, Sociedade de Nematologia, 2001. 127p.

SILVA, J.F.V. Problemas fitossanitários da soja no Brasil, com ênfase em nematóides. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, XXI, Maringá (PR). Resumos, p. 16-20, 1998.

SILVA, M. C. L.; SANTOS, C. D. G.; SILVA, G. S. Espécies de *Meloidogyne* associadas a vegetais em microrregiões do estado do Ceará. **Revista Ciência Agrônômica**. v. 47, n. 4, p. 710-719, 2016.

STANTON, J.; O'DONNELL, W. E. Assessment of the North Carolina differential host test for the identification of Australian populations of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). **Australasian Plant Pathology**. v. 27, p.104- 111, 1998.

STANTON, J.; O'DONNELL, W. E. Assessment of the North Carolina differential host test for the identification of Australian populations of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). **Australasian Plant Pathology**. v. 27, p.104- 111, 1998.

TAMALOVA, I.; IACHIA, C.; MULET, K.; CASTAGNONE-SERENO, P. 2012. The *map-1* gene family in root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp.: a set of taxonomically restricted genes specific to clonal species. **PLoS ONE** 7:e38656

TAMULONIS, J. P.; LUZZI, B. M.; HUSSEY, R. S.; PARROT, W. A.; BOERMA, H. R. RFLP, mapping of resistance to southern root-knot nematode in soybean. **Crop Science**, Madison, n.37, p. 783-788, 1997.

TAYLOR, A.L.; SASSER, J.N. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species)**. Raleigh: International *Meloidogyne* Project, NCSU & USAID Coop. Publ., 1978. 111p.

TIGANO, M. S.; CARNEIRO, R. M. D. G.; JEYAPRAKASH, A.; DICKSON, D. W.; ADAMS, B. J. 2005. Phylogeny of *Meloidogyne* spp. based on 18SrDNA and the intergenic region of mitochondrial DNA sequences. **Nematology** 7:851–62

TRIANAPHYLLOU, A. C. Cytogenetics, cytotaxonomy and phylogeny of root-knot nematodes. In: Barker K. R.; CARTER, C. C.; SASSER, J. N. eds. **An advanced treatise on *Meloidogyne*, v. 1. Biology and Control**. Raleigh, NC, USA, North Carolina State University Graphics, 1985, p. 107-114

TRUDGILL, D. L. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 29, p. 167-192, 1991.

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

WILLIANSO, V. M.; HUSSEY, R. S. Nematode pathogenesis and resistance in plants. **The Plant Cell**, v. 8, p. 1735-1745, 1996.

WYSMIERSKI, P. T. **Contribuição genética dos ancestrais da soja às cultivares brasileiras**. 2010, 130 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas). Universidade de São Paulo: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2010.

XU, X.; ZENG, L.; TAO, Y.; VUONG, T.; WAN, J.; BOERMA, R.; NOE, J.; LI, Z.; FINNERTY, S.; PATHAN, S. M.; SHANNON, J. G. (2013) Pinpointing genes underlying the quantitative trait loci for root-knot nematode resistance in palaeopolyploid soybean by whole genome resequencing. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. USA. v. 110, n. 33, p. 13469–13474, 2013.

YOUNG, L. D. Breeding for nematode resistance and tolerance. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAM, G. L. **Plant and nematode interactions**. Madison: American Society of Agronomy, 1998. p. 197-208.

Zhu, Y.; Qian, W.; Hua, J. Temperature modulates plant defense responses through NBLRR proteins. **PLoS Pathogens**. V. 6, p. 1-12, 2010.