



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA**

**PEDRO RODRIGUES MAGALHÃES**

**COMPORTAMENTO DE CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI AO PARASITISMO DE  
*Meloidogyne* spp. E AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SALINIDADE NA ECLOSÃO,  
MOTILIDADE, SOBREVIVÊNCIA E INFECTIVIDADE DE *M. enterolobii***

**FORTALEZA**

**2018**

PEDRO RODRIGUES MAGALHÃES

COMPORTAMENTO DE CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI AO PARASITISMO DE  
*Meloidogyne* spp. E AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SALINIDADE NA ECLOSÃO,  
MOTILIDADE, SOBREVIVÊNCIA E INFECTIVIDADE DE *M. enterolobii*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Nematologia Agrícola.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carmem Dolores Gonzaga Santos.

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

M168c Magalhães, Pedro Rodrigues.

Comportamento de cultivares de feijão-caupi ao parasitismo de *Meloidogyne* spp. e avaliação do efeito da salinidade na eclosão, motilidade, sobrevivência e infectividade de *M. enterolobii* / Pedro Rodrigues Magalhães. – 2018.

72 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2018.

Orientação: Profa. Dra. Carmem Dolores Gonzaga Santos.

1. *Vigna unguiculata*. 2. Osmobiose. 3. Nematóides das galhas. 4. Hospedabilidade a fitonematóides. I. Título.

CDD 630

---

PEDRO RODRIGUES MAGALHÃES

COMPORTAMENTO DE CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI AO PARASITISMO DE  
*Meloidogyne* spp. E AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SALINIDADE NA ECLOSÃO,  
MOTILIDADE, SOBREVIVÊNCIA E INFECTIVIDADE DE *M. enterolobii*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Nematologia Agrícola.

Aprovada em: 28/02/2018.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carmem Dolores Gonzaga Santos (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosilene Oliveira Mesquita  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Dagoberto Saunders de Oliveira  
Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará (ADAGRI)

A Deus.

À minha mãe e ao meu pai (*in memoriam*).

## **AGRADECIMENTOS**

À minha mãe, Marilene, que sempre me apoiou emocional e financeiramente.

À professora Carmem Dolores Gonzaga Santos pela gentileza, compreensão, confiança e orientação excelente “aos quarenta e cinco do segundo tempo”.

Ao Bruno Café, à Laianny Morais e à Isabelle Abreu, amigos do Laboratório de Estudos em Nematologia, por toda a ajuda e a paciência em me ensinarem, literalmente, até a maneira mais fácil de abrir a porta da casa de vegetação.

Aos engenheiros agrônomos e amigos Alfredo Mendonça, Fernanda Carla, Jéssica Soares, Maíra Saldanha e Mário Vasconcelos por todo o apoio durante minha vida acadêmica, ao Wesley Sabino, que me ajudou significativamente na execução de todo o experimento, e à Rita Cecília pela amizade e tradução de todos os meus resumos.

À professora Dr.<sup>a</sup> Rosilene Oliveira Mesquita e ao Dr. Dagoberto Saunders de Oliveira, participantes da banca examinadora, pelas contribuições valiosas.

“Pois eu, o Senhor, teu Deus, eu te seguro pela  
mão e te digo: Nada temas, eu venho em teu  
auxílio”

Isaías 41:13

## RESUMO

Os nematoides das galhas, *Meloidogyne* spp., são os fitonematoides mais importantes do mundo, pois, além de infectarem inúmeras plantas cultivadas, possuem elevada adaptabilidade aos mais diferentes tipos de ambiente, o que contribui para a sua maior dispersão. No Brasil, há relatos de pelo menos 20 espécies, destacando-se *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla* e *M. enterolobii*. No estado do Ceará, além destas cinco espécies, foi recentemente constatada a *M. konaensis*, relato novo para o Brasil. Esses fitoparasitas afetam diversas culturas, incluindo o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), espécie bem adaptada ao semiárido nordestino. Além disso, outra condição que afeta a produtividade das culturas é a salinidade, um dos principais fatores abióticos limitantes. Por outro lado, o feijão-caupi 'Pitiúba' possui uma boa adaptabilidade às condições de estresse salino. No entanto, ainda são escassas as informações sobre o comportamento dos nematoides das galhas em ambiente com altos níveis de salinidade. Baseado no exposto, o objetivo deste trabalho foi: 1) verificar a hospedabilidade das cultivares de feijão-caupi Pitiúba, Sempre Verde, João Paulo II e Setentão a *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. enterolobii* e *M. konaensis*; 2) avaliar eclodibilidade de J2 de *M. enterolobii* em solução salina a 100mM de NaCl; 3) avaliar a motilidade e a sobrevivência de J2 de *M. enterolobii* em solução salina nos níveis 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 300 e 400 mM de NaCl; 4) investigar a infectividade e o desenvolvimento de *M. enterolobii* em feijão-caupi 'Pitiúba' sob irrigação com solução salina ao nível de 100mM de NaCl. Constatou-se que a cultivar Sempre Verde apresentou resistência a todas as espécies de *Meloidogyne* testadas. Observou-se que a cultivar Pitiúba foi a única suscetível a *M. enterolobii*, ao passo que 'João Paulo II' apresentou resistência somente a esta espécie. As cultivares João Paulo II e Setentão foram suscetíveis ao *M. konaensis*. Verificou-se que a eclosão de J2, a motilidade e a sobrevivência de juvenis de *M. enterolobii* não foram afetadas pelos níveis de salinidade testados *in vitro*. Em plantas de 'Pitiúba' irrigadas com solução salina a 100 mM de NaCl, a infectividade de *M. enterolobii* não foi interferida, no entanto, o desenvolvimento de suas fases nas raízes infectadas foi comprometido.

**Palavras-chave:** *Vigna unguiculata*. Osmobiose. Nematóide das galhas. Hospedabilidade a fitonematoides.

## ABSTRACT

The root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., are the most important phytonematoids in the world, as they infect cultivated plants and adapt more to different types of environments, what contributes to their greater dispersion. In Brazil, there are more than 20 species, notably *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla* and *M. enterolobii*. In the state of Ceará, in addition to the five species, *M. konaensis* has recently been reported. Such phytoparasites affect crops, including cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), a well adapted species of the Northeast semiarid. In addition, another condition that affects crop productivity is the salinity, one of the major abiotic limiting factors. On the other hand, “Pitiúba” cowpea has a good ability to adapt to the saline stress. However, instructions on the behavior of gall nematodes in environments with high levels of salinity are still scarce. Based on the above, the objective of this work is: 1) to verify the hospedability of the cowpea cultivars Pitiúba, Sempre Verde, João Paulo II and Setentão to *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. enterolobii* and *M. konaensis*; 2) to evaluate the hatchability of J2 fase of *M. enterolobii* in saline solution at NaCl levels of 100 mM. 3) to evaluate motility and survival of J2 fase of *M. enterolobii* in saline at NaCl levels of 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 300 and 400 mM; 4) to investigate the infectivity and the development of *M. enterolobii* in “Pitiúba” cowpea under irrigation with saline at the NaCl level of 100mM. It was observed that the Pitiúba cultivar was the only one susceptible to *M. enterolobii*, whereas ‘João Paulo II’ presented resistance only to this species. João Paulo II and Setentão cultivars were susceptible to *M. konaensis*. J2 hatching, motility and juvenile survival of *M. enterolobii* were found to be unaffected by salinity levels tested *in vitro*. In ‘Pitiúba’ plants irrigated with saline solution at NaCl levels of 100 mM, the infectivity of *M. enterolobii* was not affected; however, the development of its phases in the infected roots was compromised.

**Keywords:** *Vigna unguiculata*. Osmobiosis. Root-knot nematodes. Hospedability to fitonematodes.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Ciclo de infecção causado por nematoide do gênero <i>Meloidogyne</i> .....	25
Figura 2	– Sementes de feijão caupi das cultivares estudadas no trabalho.....	32
Figura 3	– Inoculação de nematoides em ‘Pitiúba’ .....	33
Figura 4	– Inoculação de nematoides em cóleus.....	33
Figura 5	– Placas de Petri contendo J2 de <i>Meloidogyne enterolobii</i> em diferentes concentrações de solução salina.....	35
Figura 6	– Feijão-caupi ‘Pitiúba’ cultivados em vasos com areia.....	37
Figura 7	– Pesagem de vasos para determinação da capacidade de campo em vaso.....	38
Figura 8	– Reposição de solução salina para atingir a capacidade de campo em vaso.....	38
Figura 9	– Raízes de feijão-caupi ‘Pitiúba’ coradas com fucsina ácida sob aquecimento....	39
Figura 10	– Conjunto de lâminas de raízes coradas obtidas de plantas inoculadas com <i>Meloidogyne enterolobii</i> e irrigadas com água dessalinizada.....	40
Figura 11	– Conjunto de lâminas de raízes coradas obtidas de plantas inoculadas com <i>Meloidogyne enterolobii</i> irrigadas em solução salina.....	40
Figura 12	– Galhas em sistema radicular de Pitiúba infectada por <i>M. enterolobii</i> .....	46
Figura 13	– J2 de <i>Meloidogyne enterolobii</i> ativo após 15 dias imerso em solução salina ao nível de 100 mM de NaCl.....	50
Figura 14	– Galhas em raiz de tomateiro ‘Santa Clara’ 45 dias após inoculação de <i>Meloidogyne enterolobii</i> com: a) J2 que permaneceram por 15 dias em solução salina; b) J2 que permaneceram em água (controle).....	50
Figura 15	– <i>Meloidogyne enterolobii</i> em diferentes estádios de desenvolvimento aos 15 dias após a inoculação em raiz de feijão-caupi ‘Pitiúba’ irrigado com solução salina durante 17 dias (a) e com água dessalinizada (b).....	52
Figura 16	– <i>Meloidogyne enterolobii</i> em diferentes estádios de desenvolvimento aos 18 dias após a inoculação em raiz de feijão-caupi ‘Pitiúba’ irrigado com solução salina durante 20 dias (a) e com água dessalinizada (b).....	53

- Figura 17 – *Meloidogyne enterolobii* após 15 dias da inoculação em vasos com feijão-caupi ‘Pitiúba’ irrigado com solução salina. Fases presentes nas raízes coradas com solução contendo fucsina ácida, mostrando juvenis de segundo estágio, mais comuns (esquerda), e juvenis do terceiro e quarto estádios, pouco frequentes (direita)..... 71
- Figura 18 – *Meloidogyne enterolobii* após 15 dias da inoculação em vasos com feijão-caupi ‘Pitiúba’ irrigado com água dessalinizada. Fases presentes nas raízes coradas com solução contendo fucsina ácida, mostrando juvenis de terceiro e quarto estádios (esquerda) e fêmeas (direita)..... 71
- Figura 19 – *Meloidogyne enterolobii* após 18 dias da inoculação em vasos com feijão-caupi ‘Pitiúba’ irrigado com solução salina. Fases presentes nas raízes coradas com solução contendo fucsina ácida, mostrando juvenis de segundo estágio fusiforme e cilíndrico, mais comuns (esquerda), e juvenis de terceiro e quarto estádios, menos frequentes (direita)..... 72
- Figura 20 – *Meloidogyne enterolobii* após 18 dias da inoculação em vasos com feijão-caupi ‘Pitiúba’ irrigado com água dessalinizada. Fases presentes nas raízes coradas com solução contendo fucsina ácida, mostrando juvenis de terceiro e quarto estádios (esquerda) e fêmeas, mais comuns (direita)..... 72

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	– Avaliação da salinidade na eclosão de J2 de <i>Meloidogyne enterolobii</i> em placas de Petri.....	47
Gráfico 2	– Avaliação da salinidade na eclosão acumulada de J2 de <i>Meloidogyne enterolobii</i> em placas de Petri.....	48
Gráfico 3	– Valores médios de altura da parte aérea (APA, cm) referentes às cultivares de feijão-caupi infectadas por <i>Meloidogyne</i> spp. ....	64
Gráfico 4	– Valores médios de massa fresca da parte aérea (MFPA, g) referentes às cultivares de feijão-caupi infectadas por <i>Meloidogyne</i> spp. ....	65
Gráfico 5	– Valores médios de massa seca da parte aérea (MSPA) referentes às cultivares de feijão-caupi infectadas por <i>Meloidogyne</i> spp. ....	66
Gráfico 6	– Valores médios de comprimento da raiz (CR) referentes às cultivares de feijão-caupi infectadas por <i>Meloidogyne</i> spp. ....	67
Gráfico 7	– Valores médios de massa fresca da raiz (MFR, g) referentes às cultivares de feijão-caupi infectadas por <i>Meloidogyne</i> spp. ....	68
Gráfico 8	– Avaliação quantitativa da infectividade de <i>Meloidogyne</i> spp. sobre cultivares de feijão-caupi, considerando número de galhas (NG).....	69
Gráfico 9	– Avaliação quantitativa da infectividade de <i>Meloidogyne</i> spp. sobre cultivares de feijão-caupi, considerando número de massas de ovos (NMO).....	70

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Características morfológicas e de produção de cultivares de feijão-caupi.....	20
Tabela 2	– Classificação quanto à suscetibilidade das plantas de acordo com o número de massas de ovos.....	34
Tabela 3	– Valores médios referentes às plantas de ‘Pitiúba’ infectadas por <i>Meloidogyne</i> spp., considerando altura da parte aérea (APA), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), comprimento da raiz (CR) e massa fresca da raiz (MFR).....	41
Tabela 4	– Valores médios referentes às plantas de ‘Sempre Verde’ infectadas por <i>Meloidogyne</i> spp., considerando altura da parte aérea (APA), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), comprimento da raiz (CR) e massa fresca da raiz (MFR).....	41
Tabela 5	– Valores médios referentes às plantas de ‘João Paulo II’ infectadas por <i>Meloidogyne</i> spp., considerando altura da parte aérea (APA), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), comprimento da raiz (CR) e massa fresca da raiz (MFR).....	42
Tabela 6	– Valores médios referentes às plantas de ‘Setentão’ infectadas por <i>Meloidogyne</i> spp., considerando altura da parte aérea (APA), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), comprimento da raiz (CR) e massa fresca da raiz (MFR).....	42
Tabela 7	– Avaliação quantitativa da infectividade de <i>Meloidogyne</i> spp. sobre cultivares de feijão-caupi, considerando número de galhas (NG) e número de massas de ovos (NMO).....	44
Tabela 8	– Hospedabilidade de cultivares de feijão-caupi a <i>M. incognita</i> , <i>M. arenaria</i> , <i>M. enterolobii</i> e <i>M. konaensis</i> em função do índice de massas de ovos (IMO) e do fator de reprodução.....	44
Tabela 9	– Dados sobre motilidade de J2 de <i>M. enterolobii</i> após 24h e 48 h de imersão em solução salina em concentrações de NaCl.....	49
Tabela 10	Número de juvenis em raízes coradas de ‘Pitiúba’ com <i>M. enterolobii</i> .....	51

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	17
<b>2.1</b>	<b>Feijão-caupi</b> .....	17
<b>2.1.1</b>	<i>Origem e taxonomia</i> .....	17
<b>2.1.2</b>	<i>Importância econômica</i> .....	17
<b>2.1.3</b>	<i>Características morfológicas</i> .....	18
<b>2.1.4</b>	<i>Cultivares de importância para o Ceará</i> .....	19
<b>2.1.5</b>	<i>Aspectos gerais do cultivo</i> .....	20
<b>2.1.6</b>	<i>Aspectos fitossanitários</i> .....	21
<b>2.2</b>	<b>Nematoides</b> .....	21
<b>2.2.1</b>	<i>Características gerais</i> .....	21
<b>2.2.2</b>	<i>O gênero ‘Meloidogyne’</i> .....	23
<b>2.2.2.1</b>	<i>Meloidogyne incognita</i> .....	26
<b>2.2.2.2</b>	<i>Meloidogyne arenaria</i> .....	26
<b>2.2.2.3</b>	<i>Meloidogyne enterolobii</i> .....	27
<b>2.2.2.4</b>	<i>Meloidogyne konaensis</i> .....	28
<b>2.3</b>	<b>Salinidade</b> .....	28
<b>2.3.1</b>	<i>Salinidade e feijão-caupi ‘Pitiúba’</i> .....	29
<b>2.3.2</b>	<i>Salinidade e fitonematoides</i> .....	30
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	31
<b>3.1</b>	<b>Localização dos ensaios</b> .....	31
<b>3.2</b>	<b>Obtenção dos inóculos de <i>Meloidogyne</i> spp.</b> .....	31
<b>3.3</b>	<b>Ensaio I - Avaliação da suscetibilidade de cultivares de feijão-caupi a <i>Meloidogyne</i> spp.</b> .....	31
<b>3.4</b>	<b>Ensaio II - Avaliação da salinidade na eclosão de <i>M. enterolobii</i></b> .....	34
<b>3.5</b>	<b>Ensaio III – Motilidade, sobrevivência e infectividade de <i>M. enterolobii</i> na fase J2 em solução salina <i>in vitro</i></b> .....	35
<b>3.6</b>	<b>Ensaio IV - Infectividade de <i>M. enterolobii</i> em plantas de feijão-caupi ‘Pitiúba’ irrigadas com solução salina</b> .....	36
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	41

4.1	<b>Ensaio I - Avaliação da suscetibilidade de cultivares de feijão-caupi a <i>Meloidogyne</i> spp.</b>	41
4.2	<b>Ensaio II - Avaliação da salinidade na eclosão de <i>M. enterolobii</i></b>	47
4.3	<b>Ensaio III – Motilidade, sobrevivência e infectividade de <i>M. enterolobii</i> na fase J2 em solução salina <i>in vitro</i></b>	49
4.4	<b>Ensaio IV - Infectividade de <i>M. enterolobii</i> em plantas de feijão-caupi ‘Pitiúba’ irrigadas com solução salina</b>	51
5	<b>CONCLUSÃO</b>	55
	<b>REFERÊNCIAS</b>	56
	<b>APÊNDICE A - GRÁFICOS COM DADOS REFERENTES AOS RESULTADOS OBTIDOS NO ENSAIO I</b>	64
	<b>APÊNDICE B - IMAGENS REFERENTES ÀS LÂMINAS PREPARADAS COM <i>Meloidogyne enterolobii</i> PARA O ENSAIO IV</b>	71

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Meloidogyne* Goeldi (1887), que engloba os chamados nematoides das galhas, abrange mais de 100 espécies no mundo (BLAXTER *et al.*, 1998; HUNT e HANDOO, 2009). O alto nível de diversidade genética desse gênero favorece o seu parasitismo em numerosas espécies vegetais, nas quais pode causar perdas acentuadas na produção. No Brasil, foram relatadas 20 espécies caracterizadas por métodos bioquímicos e moleculares, destacando-se *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla* e *M. enterolobii* (CARNEIRO *et al.*, 2001; TAYLOR e SASSER, 1978; TIHOHOD, 1993). A espécie *M. konaensis* foi recentemente constatada no Ceará, sendo um relato novo para o Brasil (MONTEIRO *et al.*, 2016).

O principal sintoma primário da infecção por esses nematoides é a formação de galhas nas raízes, que se assemelham com os rizóbios em raízes de leguminosas, diferindo destes por não se destacarem do sistema radicular. Os sintomas secundários em plantas infectadas podem ser confundidos com aqueles causados por deficiência mineral ou por outros fitopatógenos, sendo comumente observados em reboleiras (FREITAS, 2001; TIHOHOD, 1993).

Os nematoides das galhas afetam diversas espécies vegetais, incluindo o feijão-caupi, *Vigna unguiculata*, cultura bem adaptada ao semiárido nordestino, principalmente por possuir bom desempenho agrônomico em condições de baixa disponibilidade hídrica e nutricional. Em razão disso, constitui uma fonte de proteína importante na cesta básica, particularmente do nordestino. Além disso, o feijão-caupi pode ser empregado na alimentação animal, como adubo verde e cobertura vegetal. O Ceará possui cultivares bem adaptadas à região, tendo a Universidade Federal do Ceará (UFC), por meio do Banco de Germoplasma do Feijão-Caupi, lançado cultivares que se estabeleceram no estado. Dentre as cultivares de feijão-caupi lançadas pela UFC destacam-se a ‘Pitiúba’, ‘Sempre Verde’, ‘João Paulo II’ e ‘Setentão’ pelas boas características agrônomicas (PAIVA *et al.*, 2014).

Além das meloidoginoses, a salinidade é um outro fator que limita a produtividade das plantas cultivadas, constituindo o principal fator abiótico presente em algumas regiões de clima semiárido, onde a escassez de chuvas acelera o processo de salinização dos solos (MEDEIROS *et al.*, 2016).

Os nematoides das galhas são capazes de se adaptar a vários ambientes com variação de temperatura, de umidade e salinidade (ADRIAN, EVANS e PERRY, 2005). Contudo, são ainda escassas informações sobre seu comportamento em ambiente salino no

Brasil. Por outro lado, cultivares de feijão-caupi como ‘Pitiúba’ possuem uma boa adaptabilidade a condições de estresse salino (ABREU, 2012).

Baseado no exposto, o objetivo deste trabalho foi verificar a hospedabilidade de quatro cultivares de feijão-caupi a quatro espécies de *Meloidogyne* e avaliar, *in vitro*, o efeito da salinidade na eclosão, na motilidade e na sobrevivência do nematoide como também da infectividade dos juvenis de *M. enterolobii* em feijão-caupi ‘Pitiúba’ em condições controladas de casa de vegetação.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Feijão-caupi

#### 2.1.1 Origem e taxonomia

O feijão-caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., também conhecido como feijão-de-corda, feijão-de-praia, feijão-da-estrada, feijão-de-rama, feijão-fradinho ou feijão macassar, macaça ou macáçar, é uma planta dicotiledônea (FREIRE FILHO, 1999; NEVES *et al.*, 2011;).

Pertence à família Fabaceae, a terceira maior família das angiospermas, estando atrás das Famílias Asteraceae e Orchidaceae, e à subfamília Faboideae. Outras fabáceas de grande importância econômica são: amendoim (*Arachis hypogaea* L.); ervilha (*Pisum sativum*); feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), tanto no consumo direto do grão quanto na forma de vagem; feijão fava (*Phaseolus lunatus*); grão-de-bico (*Cicer arietinum*); lentilha (*Lens culinaris*); e soja (*Glycine max* L. Merr.) (ARRIEL, 2014; GUNN, 1984).

O oeste da África é apontado como a região de origem e o centro primário de diversificação da cultura. Estima-se que sua introdução no Brasil ocorreu por volta da metade do século XVI, por meio da colonização portuguesa (FREIRE FILHO, 1988).

#### 2.1.2 Importância econômica

De acordo com a FAO (2017), a produção mundial dessa fabácea no ano de 2014 girou em torno de 5,5 milhões de toneladas, produzidos em uma área aproximada de 12,6 milhões de hectares, sendo o continente africano responsável por 95,7% da produção. De acordo com o último Censo Agropecuário, a produção nacional atingiu a marca de 1.122.139 toneladas, rendendo ao país R\$ 936.825,00 (novecentos e trinta e seis mil, oitocentos e vinte e cinco reais), havendo destaque para a região Nordeste, responsável por aproximadamente 84,6% da produção. O Ceará foi o estado pioneiro, produzindo 343.776 toneladas, o que lhe conferiu R\$ 275.729,00 (duzentos e setenta e cinco mil, setecentos e vinte e nove reais) (IBGE, 2006).

O cultivo do feijão-caupi está voltado basicamente para a produção de grãos para consumo humano, sendo muito importante na dieta de famílias nordestinas, principalmente as

de baixa renda, por ser de preço mais acessível, excelente fonte de proteínas (em torno de 25%), aminoácidos, carboidratos, minerais, fibras dietéticas vitaminas, como as do complexo B, e por possuir baixo teor de gordura. A cultura também é utilizada para a alimentação animal nas formas de forragem verde, farinha, feno e ensilagem e também como fonte de adubo e cobertura vegetal. Possui bom desempenho agrônômico frente ao estresse hídrico e em solos de baixa fertilidade, não possuindo necessidades nutricionais específicas. Além disso têm a vantagem de fixar o nitrogênio atmosférico através da simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium* (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002; FROTA *et al.*, 2008).

### **2.1.3 Características morfológicas**

As características morfológicas da planta como porte, formato, tamanho e cor da vagem e das sementes, incluindo a produção, variam com a cultivar. O ciclo é dividido entre a fase vegetativa, que vai desde a semeadura até a abertura completa das folhas definitivas, ao passo que a fase reprodutiva abrange o surgimento dos primórdios do primeiro botão floral, passando pela floração completa, até a maturação de 90% das vagens (CAMPOS *et al.*, 2000). A classificação quanto ao ciclo é determinada a partir da época de maturação das sementes, variando, em média, de 60 a 90 dias, sendo extraprecoce se inferior a 60 dias; precoce de 61 a 70 dias; médio de 71 a 80 dias; tardio de 81 a 90 dias e extratardio, quando acima de 90 dias (PAIVA *et al.*, 2014).

Há cultivares com porte rasteiro, cujos ramos principais ficam em contato direto com o solo, outras com porte ereto, na qual os ramos secundários formam um ângulo agudo em relação ao ramo principal, e cultivares com portes intermediários a estes. A floração varia de 30 a 60 dias, em média, podendo as flores assumirem a coloração branca ou violeta. As vagens possuem comprimento médio entre 30 e 60 cm, formato cilíndrico, com variações de retilíneas a curvadas, e de coloração amarelada, rosada, arroxeadas ou rajadas. As sementes do feijão-caupi apresentam grande variação de cores podendo ser branca, creme, marrom, roxo, rajado, mosqueado ou preta, exibindo halos de cores diferentes. Além disso, a textura da casca pode ser lisa ou rugosa, e o formato pode ser reniforme, globoso, ovoide ou romboide. Uma característica importante é o peso de 100 sementes, que varia de extrapequena (inferior a 10g) a extragrande (superior a 30 g) (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2002; PAIVA *et al.*, 2014).

### ***2.1.4 Cultivares de importância para o Ceará***

Dada a importância do feijão-caupi para a região Norte e Nordeste, entre os anos 1963 e 1992, na Universidade Federal do Ceará (UFC), sob a supervisão do então professor José Braga Paiva, concentraram-se os estudos voltados ao melhoramento genético e colecionamento de germoplasma da cultura. Esse trabalho resultou no desenvolvimento de cultivares bem estabelecidas no estado do Ceará, as quais receberam números de registro desde CE-01 (Seridó), lançada em 1968, até o CE-922 (BR14-Mulato) registrado no Banco em 1992. Dentre as cultivares de feijão-caupi destacam-se ‘Pitiúba’ (CE-31), ‘Sempre Verde’ (CE-25), ‘João Paulo II’ (CE-586) e ‘Setentão’ (CE-596), por suas características agronômicas. A portaria Nº 126, de 7 de agosto de 2017, da Secretaria de Política Agrícola (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), inclusive, recomendou as cultivares Sempre Verde e Setentão para o Ceará (ALVES *et al.*, 1982; BRASIL, 2017; PAIVA *et al.*, 2014).

A cultivar Pitiúba, lançada em 1971, é uma excelente referência para o melhoramento genético da cultura, tendo em vista suas boas características de produção e fenotípicas bem adaptadas à região. Com ciclo precoce de 62 dias após a semeadura (DAS), possui um porte semiprostrado, cujos ramos secundários ficam em contato com o solo. Possui flores de cor violeta, maturação floral aos 45 dias, vagens amarelas ao nível da copa e sementes de coloração marrom as quais são de formato oval com o peso de 100 sementes atingindo a média de 19,4 g (DIAS *et al.*, 2015; PAIVA, *et al.*, 2014).

A ‘Sempre Verde’ foi introduzida no banco de germoplasma da UFC em 1970. Seu ciclo atinge a média de 65 dias, sendo considerado precoce. Seu porte é classificado como semiprostrado, suas flores são de cor violeta, atingindo a maturidade aos 48 dias. As suas vagens, posicionadas ao nível da folhagem, são amarelas e possuem sementes de coloração esverdeada, cujo peso de 100 sementes atinge 12,7 g (PAIVA *et al.*, 2014).

Segundo Paiva *et al.* (2014), a cultivar João Paulo II, lançada em 1989, possui ciclo precoce, em média 68 dias, porte semiprostrado, flores violeta, com maturação aos 43 dias. Suas vagens amarelas são posicionadas acima da copa, com sementes de coloração creme e peso médio de 100 sementes por volta de 17,7 g.

A ‘Setentão’, lançada em 1988, possui ciclo com duração mediana (71 dias), porte semiprostrado, flores de cor violeta, com maturidade de floração aos 51 dias, vagens amareladas e desenvolvidas acima do nível da folhagem. Suas sementes são esverdeadas e possuem o peso médio de 100 sementes em torno de 16,9 g (PAIVA *et al.*, 2014).

A Tabela 1 reúne as principais informações referentes às características de produção das cultivares de feijão-caupi Pitiúba, Sempre Verde, João Paulo II e CE-596 Setentão (PAIVA *et al.*, 2014).

Tabela 1 - Características morfológicas e de produção de cultivares de feijão-caupi.

Cultivar	Floração (dias)	Ciclo (dias)	Porte	Cor da Semente	100 sementes (g)
Pitiúba	45	62	semiprostrado	marrom	19,4
Sempre Verde	48	65	semiprostrado	esverdeada	12,7
João Paulo II	43	68	semiprostrado	creme	17,7
Setentão	51	71	semiprostrado	esverdeada	16,9

Fonte: Paiva *et al.* (2014).

### 2.1.5 Aspectos gerais do cultivo

O feijão-caupi possui bom desempenho agrônômico em clima tropical, podendo ser cultivado tanto em locais de clima seco, como a região Nordeste, quanto em locais de clima úmido, como a região Norte do Brasil (OLIVEIRA *et al.*, 2004). A demanda hídrica da cultura varia de 300 a 450 mm por ciclo, dependendo da cultivar e das características edafoclimáticas locais (NEVES *et al.*, 2011). O feijão-caupi é também pouco exigente no que se refere ao preparo do solo, no entanto, técnicas como a aração, podem tornar o solo mais friável, aumentando a possibilidade de sucesso no cultivo (MEDEIROS, ARAÚJO e COSTA, 2005; NEVES, 2011).

Segundo Neves *et al.* (2011), o espaçamento de plantio do feijão-caupi, que deve ser por semeadura direta, varia com o porte da cultivar em questão. Para plantas de porte prostrado ou semiprostrado, recomenda-se de 0,8 a 1 m entre fileiras e 0,25 m entre covas; e para plantas de porte ereto ou semiereto, recomenda-se de 0,5 a 0,6 m entre fileiras e 0,25 m entre covas. Aconselha-se manter 2 plantas por cova após o desbaste em plantio manual ou uma média de 7 plantas por fileira para plantios em sulco ou mecanizado.

Logo após a secagem das vagens na planta deve-se realizar a colheita, a fim de manter a qualidade da semente, protegendo-as de possíveis intempéries bióticas ou abióticas, podendo ser manual ou mecanizada (NEVES *et al.* 2011). A produtividade média da cultura varia comumente de 300 a 400 kg.ha<sup>-1</sup> (ALCANTARA *et al.*, 2006).

### 2.1.6 Aspectos fitossanitários

Segundo o levantamento fitossanitário feito por Kimati (2005), o feijão-caupi está sujeito a diversos tipos de doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides, o que pode comprometer significativamente a produtividade da cultura.

Os principais fungos que afetam o feijão-caupi no Brasil são *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotium rolfsii*, *Rizoctonia solani*, associados à murchas nas plantas, e *Entyloma vignae*, *Uromyces vignae* e *Erysiphe polygoni* causadores de doenças de parte aérea. A bactéria *Xhantomonas axonopodis* pv. *vignicola* é a de maior destaque para a cultura afetando folhas, caule e vagens (SOBRINHO, 2016).

Os vírus são importantes patógenos que afetam o feijão-caupi. Os mais frequentemente associados à cultura, presentes em todo o Brasil, são o *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) e o *Cowpea severe mosaic virus* (CpSMV), causadores de mosaico e aparência clorótica, geralmente apresentando bolhosidade, distorção das folhas e redução na produção (BARROS *et al.*, 2013; LIMA, SITTOLIN e LIMA, 2005; SANTOS, FREIRE FILHO e CARDOSO, 1982).

Das doenças causadas por fitonematoides em feijão-caupi, destacam-se as meloidoginoses (*Meloidogyne* spp.), sendo consideradas as mais importantes para a cultura, particularmente as causadas pelas espécies *M. incognita* (Kofoid e White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood, *M. arenaria* (Neal) Chitwood e *M. hapla* Chitwood (KIMATI, 2005; PONTE, 1977). Esses patógenos, conhecidos como nematoides das galhas, são parasitas obrigatórios que afetam as raízes das plantas, induzindo a proliferação e o crescimento de células, originando as estruturas conhecidas como tumores ou galhas (TIHOHOD, 1993).

## 2.2 Nematoides

### 2.2.1 Características gerais

Os nematoides são animais considerados aquáticos e pertencentes ao subreino Eumetazoa, divisão Bilaterata, subdivisão Protostomia, superfilo Pseudocelomata, filo Nematoda existindo duas classes, a Chromadorea e Enoplea. Possuem corpo cilíndrico, não-segmentado, de cutícula esbranquiçada ou translúcida. São encontrados em diversos habitats como nas águas marinhas, águas doces e filmes de água no solo. Possuem hábito de vida

parasitária ou de vida livre, neste caso alimentam-se de microrganismos como algas, bactérias, fungos, protozoários, alguns tipos de anelídeos e até mesmo outros nematoides. As espécies parasitas variam quanto ao hábito de alimentação, sendo classificadas em zooparasitas, afetando animais e o homem, e fitoparasitas, que infectam as plantas. Embora a maioria das espécies de fitonematoides possua maior preferência pelos órgãos subterrâneos das plantas, existem espécies que estão associadas à parte aérea (BLAXTER *et al.*, 1998; GOULART, CARES e FERRAZ, 2009; FERRAZ *et al.*, 2010).

Os fitonematoides possuem tamanho que varia de 0,3 a 3 mm de comprimento por 0,015 a 0,05 mm de diâmetro, o que facilita seu movimento na película de água do solo e sua penetração nos tecidos vegetais, em busca de alimentação e reprodução (FREITAS, 2001; TIHOHOD, 1993).

Anatomicamente, o que caracteriza as espécies fitoparasitas é a presença de uma estrutura na cavidade bucal chamada estilete, que possibilita a sua penetração e injeção de toxinas que podem modificar as estruturas dos órgãos vegetais, e a sua alimentação (FREITAS, 2001). São classificados, de acordo com o hábito alimentar, em: 1) ectoparasitas migradores; 2) ectoparasitas sedentários; 3) endoparasitas migradores; ou 4) endoparasitas sedentários. Quanto ao modo de ação, os fitonematoides possuem: 1) a ação traumática, caracterizada por danos físicos no tecido vegetal em razão da perfuração da parede celular e movimentação em seu interior; 2) a ação espoliadora, resultante do consumo de nutrientes que seriam destinados ao desenvolvimento da planta; e 3) a ação tóxica, caracterizada pela injeção de enzimas nas células para a digestão do conteúdo celular, tornando-o líquido para que sirva de alimento (MICHEREFF, 2001; TIHOHOD, 1993).

A reprodução na maioria das espécies de fitonematoides é de forma sexuada. A deposição de ovos pelas fêmeas pode ocorrer no solo ou no tecido vegetal. Estes originarão juvenis, cujas formas iniciais de desenvolvimento assemelham-se à forma adulta, exceto pela formação dos órgãos reprodutores. Como ocorre com bactérias e fungos, os nematoides podem sobreviver em condições ambientais desfavoráveis com metabolismo reduzido, em forma de dormência, que pode ser por diapausa ou por quiescência. Constata-se comumente em ovos e no juvenil de quarto estágio. Diapausa é uma dormência mais demorada, uma estratégia de sobrevivência do nematoide. Está associada ao seu desenvolvimento e ocorre, principalmente, na estação fria podendo persistir ainda que o ambiente adequado retorne, pois sendo intrínseca ao desenvolvimento do indivíduo, cessa apenas quando requerimentos específicos são satisfeitos (ADRIAN, EVANS e PERRY, 2005). A quiescência, por outro lado, ocorre em razão do surgimento de condições ambientais adversas como a falta de água

(anidrobiose), de oxigênio (anoxibiose), temperaturas muito baixas (criobiose) e estresse osmótico (osmobiose), podendo o nematoide se recuperar com o reestabelecimento das condições ideais. Com a persistência do estresse, contudo, o nematoide pode entrar em metabolismo não mensurável, denominado criptobiose (AMORIM, REZENDE e BERGAMIN FILHO, 2011; GLAZER, 2002; MICHEREFF, 2001)

### 2.2.2 O gênero '*Meloidogyne*'

Em 1878, no estado do Rio de Janeiro, C. Jobert se deparou com um problema sanitário em cafeeiros caracterizado pela presença de “nós” nas raízes das plantas causados por vermes presentes no solo. Em 1887, o pesquisador suíço Emílio Augusto Goeldi, analisando o mesmo problema, identificou o organismo causador, nomeando-o de *Meloidogyne exigua*, criando, assim, o gênero de fitonematoides mais importante do mundo (AMORIM, REZENDE e BERGAMIN FILHO, 2011).

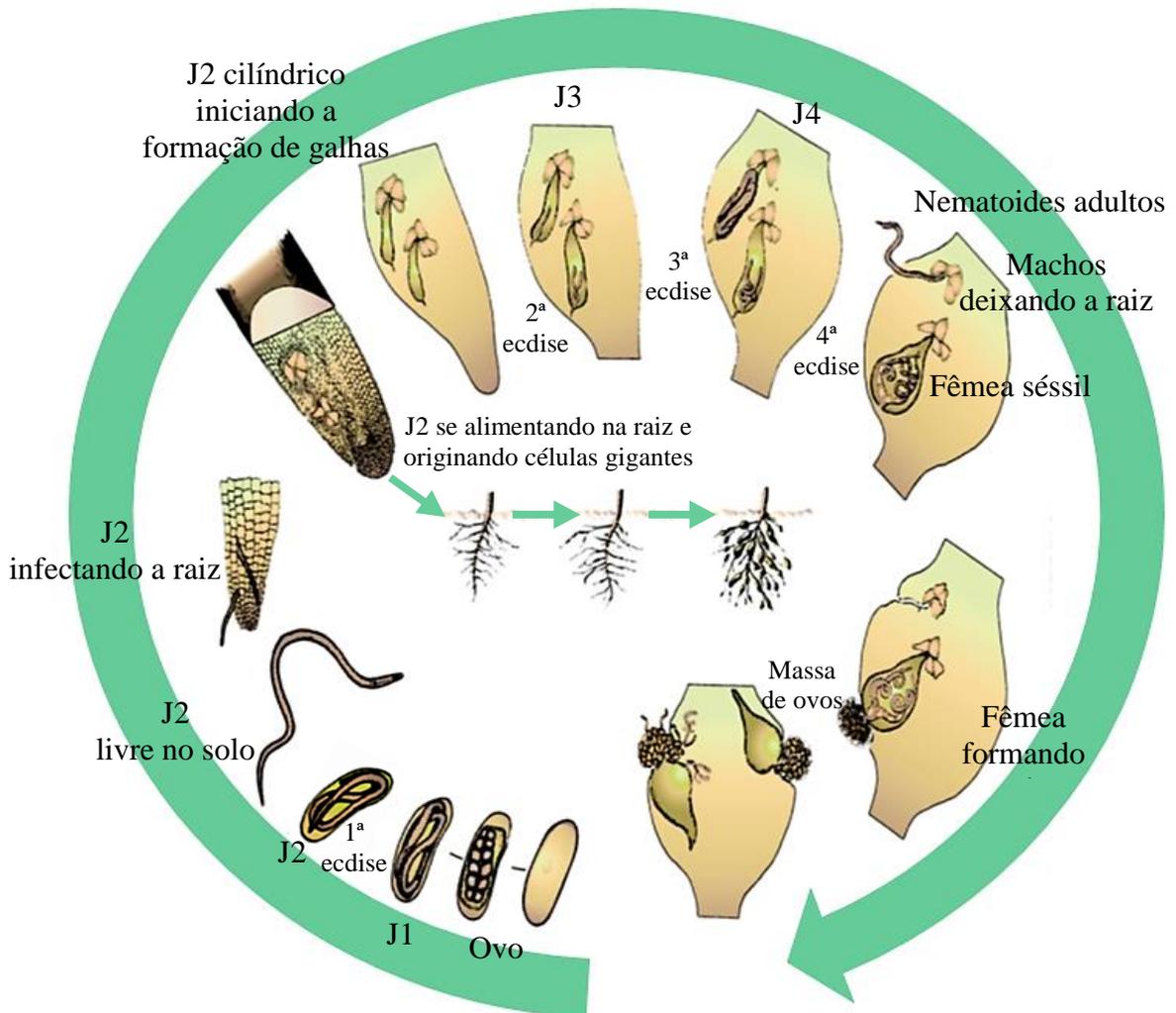
O gênero *Meloidogyne* Goeldi (1887), pertence à classe Chromadorea, ordem Rhabditida, subordem Tylenchina e à família Meloidoginidae, abrangendo mais de 100 espécies no mundo (BLAXTER *et al.*, 1998; HUNT e HANDOO, 2009). No Brasil, foram relatadas 20 espécies caracterizadas por métodos bioquímicos e moleculares (CARNEIRO *et al.*, 2016). Os elevados índices de reprodução e a excelente adaptabilidade do gênero ao clima tropical são os principais fatores favoráveis à sua disseminação nas diversas regiões. O alto nível de diversidade genética do nematoide das galhas contribui para o sucesso do seu parasitismo em numerosas espécies vegetais. Entre as espécies que merecem maior destaque estão *M. incognita* Kofoid e White (1919) e Chitwood (1949), *M. javanica* Treub (1885) e Chitwood (1949), *M. arenaria* Neal (1889) e Chitwood (1949) e *M. hapla* Chitwood (1949), que representam mais de 95% dos nematoides das galhas em solos cultivados no mundo (CARNEIRO *et al.*, 2016; TAYLOR e SASSER, 1978; TIHOHOD, 1993).

Há uma diferenciação no formato dos corpos dos indivíduos adultos do gênero *Meloidogyne* chamada dimorfismo sexual, em que as fêmeas são globosas e os machos fusiformes. Quanto a reprodução, há o predomínio da partenogênese que pode ser mitótica e meiótica, podendo ocorrer a anfimixia (CARNEIRO *et al.*, 2016). A fêmea possui comprimento variando de 0,3 mm a 2 mm e diâmetro médio de 0,4 mm, formato globoso, coloração esbranquiçada, estilete curto e vulva subterminal, próxima ao ânus, com vida sésil (LUC, SIKORA e BRIDGE, 1990; TIHOHOD, 1993).

A fêmea produz, em média, 500 ovos podendo atingir até 3.000 ovos, que se mantêm unidos devido a uma matriz gelatinosa expelida pelas glândulas retais, formando a chamada massa de ovos encontrada acima ou abaixo da superfície radicular, geralmente sobre as galhas. No interior do ovo, após finalização do desenvolvimento embrionário, encontra-se um indivíduo juvenil em seu primeiro estágio, chamado J1. Após a primeira ecdise, que ocorre no interior do ovo, surge a segunda forma da fase juvenil, o J2, cujo indivíduo fusiforme, de 250 a 600  $\mu\text{m}$  é móvel, constituindo a única fase infectiva, capaz de migrar para outras regiões através da película de água do solo, em busca de raízes hospedeiras (FERRAZ *et al.*, 2010; HUNT e HANDOO, 2009; TIHOHOD, 1993). O J2, atraído por exsudatos radiculares, atinge a raiz e penetra na ponta da raiz, zona de alongamento celular, região de diferenciação celular e migra pelo cilindro vascular. Inicia a sua alimentação com perfurações exploratórias e secreções esofagianas, iniciando um polo de alimentação caracterizado pela hiperplasia e hipertrofia de células que funcionam como dreno de nutrientes para o patógeno. Ao alimentar-se, o J2 expande a região posterior, assumindo um formato “salsichoide” e perde parte de sua motilidade. Em seguida, sofre a segunda ecdise, assumindo a fase J3, referente à terceira etapa do estágio juvenil, na qual é sedentária. Adiante, ocorre a terceira ecdise formando um juvenil de 4º estágio (J4). Durante as fases J3 e J4, o indivíduo está desprovido de estilete e encontra-se com o esôfago degradado, o que impossibilita sua alimentação. Ao final da fase J4 ocorre a quarta ecdise, originando um indivíduo adulto com esôfago e estilete recuperados. O macho, de formato fusiforme, surge após uma metamorfose e deixa a raiz. A fêmea sedentária dá continuidade ao ciclo que dura, em média, 28 dias, podendo variar conforme a temperatura, umidade e planta hospedeira (AGRIOS, 2005; FERRAZ *et al.*, 2010; FRAGOSO *et al.*, 2007; TIHOHOD, 1993). O ciclo de vida do nematoide das galhas está ilustrado na Figura 1.

O principal sintoma de meloidoginose é a formação de galhas nas raízes, que se assemelham com rizóbios em raízes de leguminosas, mas que não se destacam da raiz como ocorre com os nódulos. A redução do sistema radicular e a presença de rachaduras em raízes como batata-doce e cenoura também são sintomas aparentes. A planta como um todo pode apresentar sintomas secundários semelhantes aos causados por deficiência mineral ou por outros patógenos como *Fusarium* spp. e *Verticilium* spp., podendo ser observadas clorose, murcha e desfolha. Pelo fato de ocorrerem de maneira desuniforme no solo, muitas vezes observam-se áreas isoladas com plantas sintomáticas em meio às assintomáticas, caracterizando a chamada infestação em reboleiras (LORDELLO, 1984, FERRAZ *et al.*, 2010).

Figura 1 - Ciclo de infecção causado por nematoide do gênero *Meloidogyne*.



Fonte: Agrios, 2005 (adaptado).

Para a diferenciação das espécies de *Meloidogyne* empregou-se durante muito tempo a técnica da observação da configuração perineal em fêmeas, que se baseava em identificar as marcas cuticulares na região posterior que diferiam entre as espécies. No entanto, esta técnica não é atualmente confiável, pois depende da percepção e experiência de quem avalia, além de possíveis variações nos padrões perineais dentro de uma mesma espécie. Há alternativas mais confiáveis para este fim que envolvem métodos eletroforéticos e biomoleculares. Para a diferenciação de raças intraespecíficas de *Meloidogyne*, tem-se os biotestes que consistem em inocular o nematoide em plantas hospedeiras capazes de diferenciá-las (CARNEIRO *et al.*, 2016; HARTMAN e SASSER, 1985; MOURA, 1996).

### 2.2.2.1 *Meloidogyne incognita*

Trata-se da espécie de fitonematoides mais importante em todo o mundo, tendo em vista sua ampla magnitude de hospedabilidade, sendo mais encontrada em regiões quentes. Em regiões de clima temperado está basicamente restrita a casas de vegetação (CARNEIRO *et al.*, 2016; MOURA, 1996; SANTANA *et al.*, 2007). No Ceará, essa espécie foi a mais comumente encontrada nas microrregiões em levantamento conduzido por Silva, Santos e Silva (2016).

Sua alta capacidade de infecção se deve ao fato de sua ampla variabilidade genética, possuindo quatro raças diferentes (SASSER, 1980). No Brasil, foi relatada associada a pelo menos 250 espécies de plantas (MANSO, 1994). No mundo, esta espécie, juntamente com *M. javanica* e *M. arenaria* infectam mais de 3.000 espécies vegetais (CARNEIRO *et al.*, 2016; TRUDGILL, 2005).

Em sua configuração perineal, a espécie possui a particularidade de ter o arco dorsal alto e trapezoidal, ausência de campo lateral e estrias grossas em forma de “V” nas regiões laterais (ALMEIDA *et al.*, 2008).

Na identificação pela eletroforese de isoenzimas, pode apresentar dois padrões, sendo I1 com a visualização de apenas uma banda e I2 com duas bandas bem próximas. Na identificação por PCR (Polymerase Chain Reaction) são utilizados três amplificadores SCAR desenvolvidos para *M. incognita* (CARNEIRO, ALMEIDA e QUÉNÉHERVÉ, 2000; CARNEIRO *et al.*, 2016).

### 2.2.2.2 *Meloidogyne arenaria*

É a terceira espécie do gênero mais importante no mundo, estando atrás apenas das espécies *M. incognita* e *M. javanica*. Possui uma ampla disseminação em diversos tipos de ambiente e uma variada gama de hospedeiros, prefere ambientes mais quentes e raramente é encontrada em regiões de clima frio. Seu primeiro relato no mundo ocorreu no século XIX, no estado da Flórida (EUA), na cultura do amendoim e no Brasil, em 1950, parasitando a cultura da soja (HUNT e HANDOO, 2009; MOURA, 1996; TENENTE, BETTIOL e CARVALHO, 2002). No Ceará, a *M. arenaria* foi a quarta espécie mais frequente encontrada afetando culturas (SILVA, SANTOS e SILVA, 2016).

Trata-se da espécie de *Meloidogyne* que possui maior variação nos aspectos morfológicos, isoenzimáticos e citológicos. Não se aconselha a configuração perineal como

forma de sua identificação em razão da semelhança com outras espécies. Quanto à caracterização enzimática, *M. arenaria* possui quatro fenótipos enzimáticos (A3N1, A1N1, A2N1 e A2N3) (CARNEIRO *et al.*, 2016).

### 2.2.2.3 '*Meloidogyne enterolobii*' Yang e Eisenback (1983)

O primeiro relato foi na China, em 1981, infectando uma fabácea conhecida como orelha-de-macaco ou tamboril *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, recebendo a denominação de *M. enterolobii* (YANG e EISENBACK, 1983). Em 2004, Xu *et al.* comprovaram que *M. enterolobii* e *M. mayaguensis* se tratavam da mesma espécie, com base em estudos moleculares e de fenótipos de esterase. Atualmente *M. mayaguensis* é sinonímia de *M. enterolobii* (HUNT e HANDOO, 2009).

Sua distribuição mundial é ampla. Ataca culturas como abóbora, aipo, batata, batata doce, berinjela, beterraba, brócolis, café, feijão, manjerição, goiaba, melancia, pimentão, salsa, soja, tabaco e tomate (HUNT e HANDOO, 2009). No estado do Ceará, foi a segunda espécie do gênero frequente nas principais zonas de produção visitadas (SILVA, SANTOS e SILVA, 2016).

É uma espécie considerada bastante agressiva, por possuir alta capacidade reprodutiva e se sobressair em relação a *M. incognita* em ensaio avaliando competição entre espécies (CAFÉ, 2016). Além do mais, é uma espécie de alta virulência, por conta de sua variada gama de hospedeiros, ficando comprovado que é capaz de infectar cultivares melhoradas geneticamente, portadoras do gene Mi, por exemplo, que confere resistência a *M. incognita* e *M. arenaria* (ROSA, WESTERICH e WILCKEN, 2015).

O primeiro relato oficial de ocorrência desse nematoide no Brasil foi na cultura da goiabeira, em 2001, nos municípios de Petrolina, no estado Pernambuco, e em Curaçá e Maniçoba, na Bahia. Na ocasião, as plantas apresentaram galhas e necroses no sistema radicular, bronzeamento de folhas e ramos, desfolhamento e morte (CARNEIRO *et al.*, 2001). Em 2004, foi feito o primeiro relato da espécie infectando goiabeira 'Paluma' no Ceará, no município de Limoeiro do Norte (TORRES *et al.*, 2005).

A identificação de *M. enterolobii* pelo padrão perineal não garante confiabilidade a respeito da sua identificação, visto que há uma grande variabilidade em sua configuração, podendo ser confundida principalmente com *M. incognita* (ALMEIDA *et al.*, 2008). A espécie possui baixa variação interespecífica, sendo utilizado o primer SCAR (MK7F) em sua identificação e seu perfil quanto à enzima esterase é o EN2 (= m2), com duas bandas

principais e duas mais fracas (CARNEIRO *et al.*, 2016).

#### 2.2.2.4 '*Meloidogyne konaensis*' Eisenback, Bernard e Schmitt (1995)

O primeiro relato da espécie no mundo ocorreu em 1991, sendo detectada em plantações de café na ilha de Kona, no Havaí (EUA), fato que influenciou o nome *M. konaensis*, tendo sido, provavelmente, introduzida na região vinda de outros países (EISENBACK, BERNARD e SCHMITT, 1994).

Segundo Monteiro *et al.* (2016), o primeiro registro da espécie no Brasil ocorreu no Ceará, sendo observado em materiais coletados de culturas como mamão, noni, repolho e em canapum, de municípios como Guaiúba, Guaraciaba do Norte, Fortaleza e Jaguaribara em microrregiões distantes (SILVA, SANTOS e SILVA, 2016). Aqueles autores ainda afirmaram, através de testes de hospedabilidade, que o café 'Mundo Novo' não é suscetível à espécie *M. konaensis*.

Seu padrão perineal pode ser descrito como uma mistura entre os padrões de *M. incognita* e *M. arenaria*, portanto, não se recomenda este método de identificação para a espécie. A caracterização enzimática mostra que o padrão de esterase da espécie K3 possui três bandas principais e uma secundária (CARNEIRO *et al.*, 2016). De forma incorreta, tem sido atribuído a essa espécie mais de um padrão de esterase, o F1 de *M. paranaensis* (CARNEIRO *et al.*, 2016) e o I1 de *M. incognita* (SIPES *et al.*, 2005).

### 2.3 Salinidade

Além de patógenos, fatores abióticos, como a salinidade, podem causar problemas nas culturas afetando seu desenvolvimento. A salinidade é um problema presente em solos mal manejados, com más condições de drenagem, uso indiscriminado de adubos químicos, água de baixa qualidade para a irrigação, ou por causas naturais devido ao intemperismo das rochas, que apresentam altos teores de sais solúveis e influenciam diretamente a agricultura (MEDEIROS *et al.*, 2016). Trata-se do fator abiótico que mais prejudica o desenvolvimento vegetal, sendo o cloreto de sódio (NaCl) o sal mais comum em ambientes salinos (TÜRKAN e DEMIRAL, 2009). Segundo Bernardo, Soares e Mantovani (2006), um solo é considerado salino quando apresenta condutividade elétrica superior a 4 dS/m (40 mM).

Esta influência é observada principalmente no aumento do potencial osmótico da solução no solo, diminuindo a taxa de absorção pelo sistema radicular, o que aumenta a

absorção de íons como sódio ( $\text{Na}^+$ ), resultando em distúrbios fisiológicos e físicos nas plantas. Isso é comum de ser observado em regiões de clima semiárido como o Nordeste brasileiro, onde aproximadamente 6% de seu território é atingido por problemas envolvendo a salinidade. O crescimento populacional contribui diretamente com a maior necessidade de produção de alimentos, o que induz a expansão de áreas de cultivo em perímetros irrigados, por exemplo, e culmina na maior possibilidade de utilização de águas salinas na irrigação e consequente salinização do solo (RIBEIRO, 2016). Outras regiões como a do Pantanal em Mato Grosso e no Rio Grande do Sul também são atingidas por problemas decorrentes da salinidade no solo (MEDEIROS *et al.*, 2016).

Os sintomas de toxicidade por sais em plantas variam de acordo com o sal em questão. A exemplo, a toxidez causada pelo NaCl confere ao feijão-caupi um aspecto clorótico seguido de murcha nas folhas, redução das áreas radicular e foliar, consequentemente da evapotranspiração, o que dificulta a absorção de nutrientes do solo e taxas fotossintéticas, reduzindo drasticamente a produção da cultura. A água presente no cristalino cearense, por exemplo, recebe a denominação de cloretada sódica, em virtude dos sais presentes serem principalmente o cloro e o sódio (BRITO *et al.*, 2015; PRISCO, GOMES FILHO e MIRANDA, 2016; SILVA e AMORIM, 2009; SILVA JÚNIOR, GHEYI e MEDEIROS, 1999).

### **2.3.1 Salinidade e feijão-caupi ‘Pitiúba’**

Pesquisas que visem o aprimoramento de espécies halotolerantes vêm ganhando cada vez mais notoriedade no mundo. Nesse contexto, encontra-se o feijão-caupi, espécie bem adaptada ao clima do semiárido brasileiro, que possui produtividade relativamente boa em condições de déficit hídrico e nutricional, ganhando um maior foco a cultivar Pitiúba, que possui certa resistência à salinidade, apresentando maiores taxas de desenvolvimento em condições de estresse salino, quando comparada a outras cultivares (ASSIS JÚNIOR *et al.*, 2007; COSTA, 2003; SOUSA *et al.*, 2007).

Dados de Freitas (2006) mostram que o índice de velocidade e o percentual de germinação de ‘Pitiúba’ ao nível de 100 mM NaCl em papel Germitest por 96 horas foram semelhantes ao tratamento controle, sem o sal. O mesmo autor observou maior desenvolvimento radicular e de parte aérea em plântulas de ‘Pitiúba’ aos oito dias após semeadura irrigada com solução salina (100mM NaCl) em casa de vegetação, quando comparada à cultivar Pérola na mesma condição. Segundo Abreu. (2012), a cultivar Pitiúba

apresentou tolerância a salinidade a 75 mM NaCl, havendo, porém, uma redução de 48% na área foliar em cultivo em solução hidropônica a 100 mM NaCl, aos 15 dias após o início dos tratamentos, em relação ao tratamento controle sem sal.

### 2.3.2 Salinidade e fitonematoides

A salinidade do solo é considerada como um importante estresse que afeta as culturas. Elevados níveis de salinidade podem suprimir o crescimento das plantas e afetar o metabolismo de suas raízes. São relatadas alterações diversas na eclosão, infectividade, no desenvolvimento e na reprodução de fitonematoides como é o caso da espécie *M. incognita* que, na fase J2, apresentou um atraso na penetração em raízes de quiabo e pepino. Foi observado que ocorreu também maior tempo para a formação dos indivíduos J3 e J4, fêmeas e produção de ovos nas duas espécies vegetais (KHAN, KHAN e KHAN, 1997).

Há também indícios de que o estresse salino pode interferir no potencial de reprodução de *M. javanica* em tomate, contudo, pode ocorrer uma osmorregulação por parte da população de juvenis, a fim de suprimir os efeitos da salinidade (MAGGENTI e HARDAN, 1973). Quiescência foi induzida em J2 de *M. incognita* em níveis de 300 mM de NaCl (ADRIAN, EVANS e PERRY, 2009).

Foi observado um efeito indireto no número de fêmeas do nematoide reniforme, *Rotylenchulus reniformis*, por grama de raiz de algodão, relacionado ao menor sistema radicular da planta devido a salinidade da água de irrigação (HEALD e HEILMAN, 1971). Juvenis de *M. javanica* tiveram seu desenvolvimento afetado pela salinidade em estudo com cultivo de berinjela em ambiente salino (SUMERA *et al.*, 2015).

Por outro lado, Mashela, Duncan e McSorley (1992) observaram que o nematoide dos citros, *Tylenchulus semipenetrans*, teve o seu desenvolvimento e sua reprodução em porta-enxerto de citros favorecidos pela salinidade, associando as elevadas populações do nematoide com as áreas de produção de citros irrigados com água salina.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Localização dos ensaios

O trabalho foi conduzido em casa de vegetação e no Laboratório de Fitopatologia pertencentes ao Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará (UFC), Campus Pici, Fortaleza - CE, entre setembro de 2017 e março de 2018.

A temperatura da casa de vegetação foi registrada diariamente, atingindo a variação de  $30 \pm 4^{\circ}\text{C}$ , em média  $32^{\circ}\text{C}$ .

#### 3.2 Obtenção dos inóculos de *Meloidogyne* spp.

Os inóculos de *M. incognita* raça 2, *M. arenaria*, *M. enterolobii* e *M. konaensis* foram obtidos de plantas de cóleus (*Solenostemon scutellarioides* L. Codd) cultivadas na própria casa de vegetação. Cada uma das espécies foi identificada por eletroforese de isoenzimas (esterase) e tem sido mantidas e multiplicadas em tomateiros e em cóleus.

As raízes infectadas, com cada uma das respectivas espécies do nematoide, foram trituradas adotando a metodologia de Bonetti e Ferraz (1981), empregando liquidificador com água contendo hipoclorito de sódio a 0,5% por 30 segundos. Em seguida, a suspensão obtida foi vertida em peneira de 20 mesh (0,840 mm), acoplada à peneiras de 100 mesh (0,149 mm) sobre outra de 400 mesh (0,037 mm).

O material retido na peneira de 400 mesh foi coletado em um béquer, com auxílio de jatos de água de uma pisseta. Feita a coleta, o material de cada espécie seguiu para câmara de Peters, a fim de determinar, com o auxílio de microscópio estereoscópio, a quantidade de ovos. Em seguida, o inóculo foi calibrado para 5.000 ovos em 3 mL.

#### 3.3 Ensaio I - Avaliação da suscetibilidade de cultivares de feijão-caupi a *Meloidogyne* spp.

Este ensaio consistiu em verificar a suscetibilidade das cultivares de feijão-caupi 'Pitiúba' (CE-31), 'Sempre Verde' (CE-25), 'João Paulo II' (CE-586) e 'Setentão' (CE-596) à infecção pelos nematoides *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. enterolobii* e *M. konaensis*. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, consistindo em 20 tratamentos (4

cultivares de caupi associadas a 4 espécies de nematoide, incluindo os tratamentos controle (plantas não inoculadas) de cada cultivar e 8 repetições, totalizando 160 plantas avaliadas.

O substrato utilizado, composto por areia e esterco caprino na proporção 2:1 (v:v), foi peneirado e autoclavado a 120°C durante 50 minutos. Foram utilizados vasos com capacidade para 1,5 L, sendo semeada uma semente por vaso à profundidade de 2,5 cm, com irrigação manual diária. Todas as sementes da respectiva cultivar pertenciam ao mesmo lote, obtidas junto ao Banco de Germoplasma da UFC (Figura 2).

Figura 2 - Sementes de feijão caupi das cultivares ‘Pitiúba’, ‘Sempre Verde’, ‘João Paulo II’ e ‘Setentão’, respectivamente, utilizadas no presente trabalho.



Fonte: Autor, 2018.

Aos 8 dias após a semeadura (DAS), quando as plantas apresentavam as folhas cotiledonares bem desenvolvidas foram realizadas as inoculações na quantidade de 5.000 ovos da referida espécie de *Meloidogyne* por planta, distribuindo-se a suspensão em orifícios em torno da planta e a 3 cm de profundidade (Figura 3) Para confirmar a infectividade dos inóculos cada espécie de nematoide foi inoculada em plantas de cóleus (controle) na mesma ocasião que em plantas de feijão-caupi. As plantas foram mantidas em casa de vegetação por 45 dias (Figura 4).

Após os 45 DAS, decorridos 37 dias após a inoculação (DAI), cada planta foi retirada do vaso, tendo as raízes cautelosamente lavadas em água corrente a fim de remover vestígios de solo, e levada ao laboratório para a avaliação dos seguintes variáveis: 1) comprimento da parte aérea (CPA); 2) massa fresca da parte aérea (MFPA); 3) massa seca da parte aérea (MSPA); 4) comprimento da raiz (CR); 5) massa fresca da raiz (MFR); 6) número de galhas (NG); 7) número de massas de ovos (NMO); 8) índice de massas de ovos (IMO); 9) número de ovos (NO); 10) fator de reprodução (FR).

Figura 3 - Inoculação de ovos de *Meloidogyne enterolobii* em feijão-caupi 'Pitiúba'.



Fonte: Autor, 2018.

Figura 4 - Inoculação de ovos de *Meloidogyne enterolobii* em cóleus.



Fonte: Autor, 2018.

As variáveis CPA e CR foram determinadas com auxílio de uma régua. Para a determinação de MFPA, MFR e MSPA foi utilizada uma balança de precisão, sendo que esta última variável foi medida após cada planta ser individualizada em sacos de papel e levada à estufa com circulação forçada de ar, a 60°C, até a obtenção de massa constante. O NG e o NMO foram obtidos através de simples contagem, com auxílio de microscópio estereoscópico e marcador de contagem manual.

Para a melhor visualização das massas ovos, cada raiz foi submetida a uma solução corante à base de fucsina ácida (1 mL de água destilada, 25 mL de ácido acético glacial e 350 mg de fucsina ácida). O IMO foi calculado de acordo com a Tabela 2, empregando-se uma escala proposta por Taylor e Sasser (1978), modificada por Hadisoeganda e Sasser (1982).

Tabela 2 - Classificação quanto à suscetibilidade das plantas de acordo com o número de massas de ovos e de galhas.

Número massas de ovos ou galhas	Escala de notas	IMO	Classificação das plantas
0	0	0,0-1,0	Altamente resistente (AR)
1-2	1	1,1-3,0	Muito resistente (MR)
3-10	2	3,1-3,5	Moderadamente resistente (MOR)
11-30	3	3,6-4,0	Ligeiramente resistente (LR)
31-100	4	4,1-5,0	Suscetível (S)
>100	5	-	-

Fonte: Taylor e Sasser (1978), modificado por Hadisoeganda e Sasser (1982).

O NO foi obtido através de procedimento semelhante ao descrito no procedimento para obtenção dos inóculos de *Meloidogyne* spp. O FR, variável mais utilizada para determinar a suscetibilidade de plantas a nematoides, foi obtido por meio da divisão da população final pela população inicial inoculada ( $Pf/Pi$ ;  $Pi = 5.000$  ovos). De acordo com o valor da variável, a espécie vegetal pode ser classificada como imune ( $FR=0$ ), suscetível ( $FR>1$ ) ou resistente ( $FR<1$ ) (OOSTENBRINK, 1966).

Os dados quantitativos obtidos foram submetidos à análise de variância pelo *software* Sisvar, sendo utilizado o teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, para a comparação e diferenciação das médias (FERREIRA, 2003).

### 3.4 Ensaio II - Avaliação da salinidade na eclosão de *M. enterolobii*.

Este ensaio consistiu em avaliar *in vitro* o efeito de salinidade na eclosão de *M. enterolobii*. Para tanto, 50 ovos do nematoide foram colocados em 3 mL de solução com 100 mM NaCl em placas de Petri. Cada placa constituiu em uma repetição. Para controle do ensaio foi distribuída a mesma quantidade de ovos em água destilada. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo constituído por 2 tratamentos e 6 repetições, totalizando 12 placas e 600 ovos.

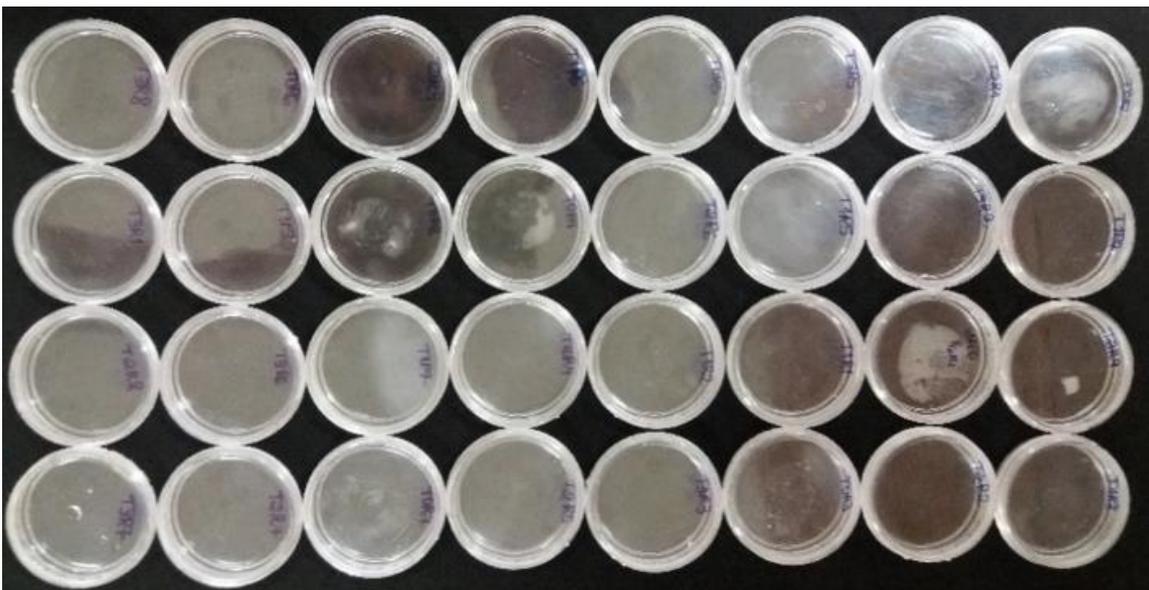
Para a obtenção de ovos, foram utilizadas raízes de cóleus infectadas. A extração dos ovos foi realizada de acordo com a metodologia descrita no procedimento para obtenção dos inóculos de *Meloidogyne* spp. Os ovos foram visualizados com auxílio de microscópio estereoscópico e coletados com auxílio de uma pipeta volumétrica de 20  $\mu$ L, alocados em placas de Petri de 3 cm de diâmetro. A eclosão de juvenis nos dois tratamentos foi contabilizada diariamente durante 15 dias. O ensaio foi conduzido em temperatura ambiente de laboratório (28°C).

Os dados quantitativos obtidos foram submetidos à análise de variância pelo *software* Sisvar, sendo utilizado o teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, para a comparação e diferenciação das médias (FERREIRA, 2003).

### 3.5 Ensaio III - Motilidade, sobrevivência e infectividade de *M. enterolobii* na fase J2 em solução salina *in vitro*.

Este ensaio foi dividido em duas etapas. A primeira consistiu na deposição de indivíduos de *M. enterolobii* na fase J2 em solução salina nos níveis 0 (controle com água destilada), 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 300 e 400 mM de NaCl em placas de Petri de acrílico de 3 cm de diâmetro por 48 horas. Este ensaio foi conduzido em DIC, sendo constituída por 11 tratamentos e 6 repetições, totalizando 66 placas. Cada repetição (placa) continha 50 juvenis de segundo estágio de *M. enterolobii* mantidos a temperatura ambiente de laboratório (28°C). Para sua obtenção, massas de ovos presentes em raízes de cóleus foram retiradas e transferidas para placas de Petri contendo água destilada. No dia seguinte, foram coletados os juvenis eclodidos com auxílio de uma pipeta volumétrica para posterior transferência para as placas contendo 3 mL das 11 soluções (Figura 5)

Figura 5 - Placas de Petri contendo J2 de *Meloidogyne enterolobii* em diferentes concentrações de solução salina.



Fonte: Autor, 2018.

Passadas as 48 horas, os J2 imóveis foram contabilizados e transferidos para água destilada a fim de constatar se ocorreu mortalidade, caso os mesmos não recuperassem a motilidade após 24 horas. Com o intuito de confirmar a infectividade dos juvenis ativos após a passagem em solução de 100 mM de NaCl, 150 J2 ativos foram coletados e inoculados em mudas de tomateiro ‘Santa Clara’ com 25 DAS. O mesmo procedimento foi realizado com juvenis de placas do tratamento controle (água). O resultado da inoculação foi observado após 45 DAI.

A segunda parte do ensaio consistiu em distribuir J2 de *M. enterolobii*, em placas de Petri com solução salina somente ao nível de 100 mM de NaCl, tendo por controle água destilada, por um período de 15 dias, para verificar sua infectividade após esse intervalo na solução salina. Esta concentração foi selecionada em razão dos ensaios posteriores, em que será avaliado o efeito de solução salina a 100mM de NaCl em irrigação de feijão-caupi. Decorrido esse tempo, 150 indivíduos móveis de cada tratamento foram retirados para inoculação em mudas de tomateiro ‘Santa Clara’ com 25 DAS irrigadas com água. O resultado da inoculação foi observado após 45 DAI. Este ensaio foi conduzido em DIC, sendo constituído por 2 tratamentos e 6 repetições, totalizando 12 placas.

Para o preparo das soluções salinas foi empregada a equação:

$$m = V \times MM \times M$$

Onde m é a massa (g) de NaCl a ser empregada para atingir o nível molar requerido; V (L) é o volume da solução; MM é a massa molar do sal em questão, no caso o NaCl (58,4 g/mol); e M é a molaridade requerida (mol/L).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo *software* Sisvar, sendo utilizado o teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, para a comparação e diferenciação das médias (FERREIRA, 2003).

### **3.6 Ensaio IV - Infectividade de *M. enterolobii* em plantas de feijão-caupi ‘Pitiúba’ irrigadas com solução salina.**

Este ensaio consistiu em avaliar a infectividade de *M. enterolobii* inoculado em plantas de feijão-caupi cv. Pitiúba irrigadas com solução salina ao nível de 100 mM de NaCl durante 18 dias. A cultivar ‘Pitiúba’ foi escolhida por apresentar considerável tolerância à salinidade enquanto que *M. enterolobii* foi selecionada no ensaio por ser uma espécie considerada mais agressiva que as demais.

Os tratamentos foram: 1) plantas sem inóculo irrigadas com água dessalinizada (controle absoluto); 2) plantas sem inóculo irrigadas com solução 100 mM de NaCl; 3) plantas com inóculo irrigadas com água dessalinizada; 4) plantas com inóculo irrigadas com solução 100 mM de NaCl, as quais foram examinadas em dois períodos, 15 e 18 dias. O ensaio foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, resultando em 8 tratamentos com 8 repetições.

Foram utilizados vasos com capacidade de 1,5 L, contendo areia de rio lavada cinco vezes, a fim de remover sais e argila presentes, e autoclavada a 120°C durante 50 minutos. As sementes de 'Pitiúba' pertenciam ao mesmo lote e foram obtidas junto ao Banco de Germoplasma da UFC. A semeadura seguiu os mesmos padrões empregados no ensaio I. Os vasos foram dispostos sobre outros como suporte para evitar contato direto com abancada (Figura 6).

Figura 6 – Feijão-caupi 'Pitiúba' cultivado em vasos com areia.

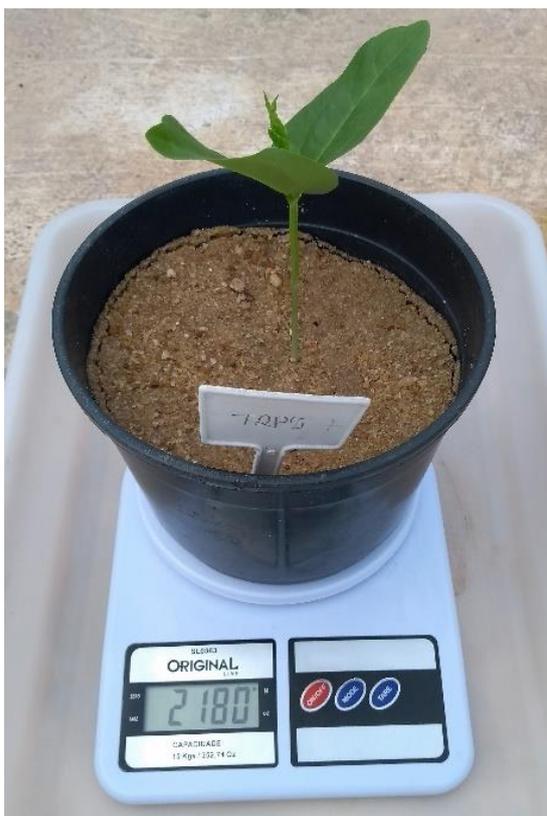


Fonte: Autor, 2018.

A água dessalinizada para a execução dos tratamentos controle e para o preparo da solução 100 mM de NaCl foi obtida através do dessalinizador modelo WW2, da marca Ferran®, pertencente ao Departamento de Bioquímica e Fisiologia Molecular da UFC (Laboratório de Fisiologia Vegetal). A massa de NaCl para atingir a molaridade da solução salina requerida neste ensaio foi determinada pela mesma equação descrita no ensaio II. A irrigação neste ensaio foi realizada individual e diariamente em cada vaso, mantendo-se a umidade do solo no

nível da capacidade de campo (CC), por meio do método de pesagem dos vasos (Figura 7) repondo-se a respectiva solução salina sempre que havia redução da água disponível (Figura 8). O volume de água ou de solução salina empregado nos 4 tratamentos para manutenção da CC variou de 72 a 109 mL por vaso.

Figura 7 - Pesagem de vasos para determinação da capacidade de campo em vaso.



Fonte: Autor, 2018.

Figura 8 - Reposição de solução salina para atingir a capacidade de campo em vaso.



Fonte: Autor, 2018.

Aos 10 DAS, as plantas referentes aos tratamentos 2 e 4 passaram a ser irrigadas com solução 100 mM NaCl. Aos 12 DAS realizou-se a inoculação de 5.000 ovos/J2 de *M. enterolobii* nas plantas referentes aos tratamentos 3 e 4, conforme metodologia descrita no ensaio I.

Parte das plantas dos 4 tratamentos foi retirada aos 15 DAI (17 dias de irrigação com solução salina) e o restante das plantas após 18 DAI (20 dias de irrigação com solução salina). A diferença nas datas de avaliação decorreu do aspecto clorótico apresentado pelas plantas que se acentuou aos 18 dias, sendo com isso, encerrado o ensaio com análise da parte aérea e da raiz de todas as plantas.

As plantas foram removidas cuidadosamente e levadas ao laboratório para determinação das mesmas variáveis agrônômicas descritas para o ensaio I (APA, MSFA, MSPA, CR, MFR). Avaliaram-se também o número de galhas (NG) e os estádios de desenvolvimento do nematoide que se encontravam presentes nas raízes.

Para melhor identificação das fases dos nematoides no interior das raízes de cada planta, foi utilizada o método de coloração de nematoides em raiz com fucsina ácida desenvolvido em 1983 por Byrd, Kikpatrick e Barker (FREITAS, NEVES e OLIVEIRA, 2007).

As raízes previamente lavadas foram imersas em um béquer de 200 mL contendo 80 mL de solução à base hipoclorito de sódio (50 mL de água e 30 mL de hipoclorito de sódio comercial). O béquer foi colocado sobre um aquecedor e agitador magnético modelo MA085, da Marconi ®, com a constante agitação da solução com barra magnética durante 6 minutos. Passada esta etapa, o sistema radicular foi retirado e lavado em água corrente para a remoção do hipoclorito de sódio e levado a um béquer de 200 mL contendo água, onde a raiz clarificada permaneceu imersa por 15 minutos.

Em seguida, as raízes foram levadas a um béquer de 100 mL contendo uma solução corante à base de fucsina ácida (30 mL de água e 1 mL de fucsina ácida), a mesma empregada na coloração de massa de ovos (ensaio I), sob aquecimento até fervura (Figura 9). Cerca de 90 segundos após a fervura, as raízes foram retiradas do corante e alocadas em uma peneira, a fim de remover o excesso de solução corante à temperatura ambiente.

Figura 9 - Raízes de feijão-caupi 'Pitiúba' coradas com fucsina ácida sob aquecimento.



Fonte: Autor, 2018.

Após serem lavadas novamente em água corrente, as raízes foram postas em um béquer de 100 mL contendo 30 mL de glicerina e 200  $\mu$ L de ácido clorídrico, colocado sobre o mesmo aquecedor até atingir entre 70°C e 80°C. Por último, as raízes foram removidas da glicerina e, após o total resfriamento das raízes à temperatura ambiente, cortadas em porções de 1 a 2 cm, com auxílio de bisturi. As secções das raízes foram distribuídas entre 11 e 24 lâminas (Figuras 10 e 11), conforme seu tamanho e considerando as regiões da extremidade, centro ou base da raiz. Em seguida, as raízes foram pressionadas com lamínula, para observação e registro das fases do nematoide presentes sob microscópio óptico.

Figura 10 - Conjunto de lâminas de raízes coradas obtidas de plantas inoculadas com *Meloidogyne enterolobii* e irrigadas com água dessalinizada.



Fonte: Autor, 2018.

Figura 11 - Conjunto de lâminas de raízes coradas obtidas de plantas inoculadas com *Meloidogyne enterolobii* irrigadas em solução salina.



Fonte: Autor, 2018.

As alterações realizadas ao método original de coloração de nematoide no sistema radicular foram: 1) a agitação contínua da raiz na clarificação, e não a ocasional; 2) a duração do tempo de fervura no corante, que fora aumentado de 30 para 90 segundos, e finalmente 3) a retirada das raízes coradas antes da fervura da glicerina, adotado no método original, para evitar a desintegração das raízes. Estas mudanças possibilitaram obter uma boa intensidade de coloração dos nematoides e firmeza das raízes.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Ensaio I - Avaliação da suscetibilidade de cultivares de feijão-caupi a *Meloidogyne* spp.

As Tabelas 3, 4, 5 e 6 mostram os resultados das variáveis das cultivares de feijão-caupi ‘Pitiúba’, ‘Sempre Verde’, ‘João Paulo II’ e ‘Setentão, respectivamente, infectadas pelas quatro espécies de *Meloidogyne* inoculadas e seus respectivos controles.

Tabela 3. - Valores médios referentes às plantas de ‘Pitiúba’ infectadas por *Meloidogyne* spp., considerando altura da parte aérea (APA), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), comprimento da raiz (CR) e massa fresca da raiz (MFR).

Tratamento	APA (cm)	MFPA (g)	MSPA (g)	CR (cm)	MFR (g)
<i>M. incognita</i>	22,45 a	25,48 a	1,73 b	17,04 c	5,54 ab
<i>M. arenaria</i>	23,59 a	23,85 ab	1,77 b	16,76 c	4,70 ab
<i>M. enterolobii</i>	24,04 a	20,35 bc	2,42 a	27,49 a	6,35 a
<i>M. konaensis</i>	22,82 a	18,54 cd	1,86 ab	24,56 ab	3,95 b
Controle	21,62 a	14,45 d	1,63 b	20,55 bc	5,51 ab
C.V. (%)	9,75	16,82	21,70	15,56	25,45

Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de significância.

Tabela 4. - Valores médios referentes às plantas de ‘Sempre Verde’ infectadas por *Meloidogyne* spp., considerando altura da parte aérea (APA), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), comprimento da raiz (CR) e massa fresca da raiz (MFR).

Tratamento	APA (cm)	MFPA (g)	MSPA (g)	CR (cm)	MFR (g)
<i>M. incognita</i>	19,06 ab	13,34 a	1,83 a	22,29 ab	3,68 ab
<i>M. arenaria</i>	18,01 ab	10,82 a	1,43 a	22,95 ab	4,24 a
<i>M. enterolobii</i>	16,12 b	9,77 a	1,20 a	21,87 ab	1,57 b
<i>M. konaensis</i>	17,24 ab	8,95 a	1,06 a	19,4 ab	2,67 ab
Controle	20,85 a	16,55 a	1,76 a	26,72 a	3,78 ab
C.V. (%)	17,73	46,29	57,68	20,47	52,30

Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de significância.

Tabela 5 - Valores médios referentes às plantas de ‘João Paulo II’ infectadas por *Meloidogyne* spp., considerando altura da parte aérea (APA), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), comprimento da raiz (CR) e massa fresca da raiz (MFR).

Tratamento	APA (cm)	MFPA (g)	MSPA (g)	CR (cm)	MFR (g)
<i>M. incognita</i>	18,90 b	7,91 c	0,97 b	17,79 ab	3,87 ab
<i>M. arenaria</i>	22,85 b	15,21 ab	1,68 a	19,29 a	4,48 a
<i>M. enterolobii</i>	28,06 a	15,60 a	1,90 a	24,29 a	5,81 a
<i>M. konaensis</i>	20,70 b	9,96 c	1,17 b	14,41 b	1,69 b
Controle	19,42 b	8,40 bc	0,96 b	16,15 b	2,07 b
C.V. (%)	13,37	33,66	26,11	13,39	42,41

Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de significância.

Tabela 6 - Valores médios referentes às plantas de ‘Setentão’ infectadas por *Meloidogyne* spp., considerando altura da parte aérea (APA), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), comprimento da raiz (CR) e massa fresca da raiz (MFR).

Tratamento	APA (cm)	MFPA (g)	MSPA (g)	CR (cm)	MFR (g)
<i>M. incognita</i>	24,61 a	21,74 a	2,63 a	20,87 abc	7,83 a
<i>M. arenaria</i>	26,35 a	21,60 a	2,77 a	20,78 bc	5,77 abc
<i>M. enterolobii</i>	22,26 a	10,07 c	1,25 b	23,86 a	4,06 bc
<i>M. konaensis</i>	23,67 a	19,41 ab	2,44 a	20,20 c	6,51 ab
Controle	25,22 a	14,66 bc	2,13 a	23,36 ab	3,15 c
C.V. (%)	14,02	24,04	21,27	9,70	36,54

Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de significância.

Com relação à altura das plantas (APA), observou-se que as cultivares Pitiúba (Tabela 3) e Setentão (Tabela 6) não apresentaram diferença significativa com relação aos seus controles, enquanto que ‘Sempre Verde’ teve seu crescimento mais reduzido nas plantas infectadas com *M. enterolobii* (Tabela 4). O contrário observado em ‘João Paulo II’, em que as plantas infectadas com *M. enterolobii* tiveram a maior média em relação aos demais tratamentos (Tabela 5).

Quanto à massa fresca da parte aérea (MFPA) de ‘Pitiúba’, observaram-se os maiores valores para plantas com *M. incognita*, os quais aproximaram-se dos demais tratamentos e diferiram do controle (Tabela 3). Em ‘Sempre Verde’ essa variável não diferiu significativamente em todos os tratamentos (Tabela 4). Em ‘João Paulo II’, a MFPA foi maior nas plantas inoculadas com *M. enterolobii* e *M. arenaria*, não diferindo os valores médios dessa variável entre *M. incognita*, *M. konaensis* e o controle (Tabela 5). Em ‘Setentão’, MFPA foi semelhante em plantas com *M. incognita*, *M. arenaria* e *M. konaensis*, diferindo de *M.*

*enterolobii* em que a média da massa fresca foi a menor dentre as inoculadas (Tabela 6).

Com relação a massa seca da parte aérea (MSPA) no ‘Pitiúba’ constatou-se que as plantas com *M. enterolobii* obtiveram maior resultado, diferindo dos demais tratamentos (Tabela 3). Em ‘Sempre Verde’ essa variável não diferiu significativamente (Tabela 4). Na cultivar João Paulo II, as médias de MSPA foram semelhantes em plantas com *M. arenaria* e *M. enterolobii*, sendo superiores àquelas observadas em plantas com *M. incognita*, *M. konaensis* e o controle (Tabela 5). Em ‘Setentão’ as médias de MSPA de todos os tratamentos não diferiram estatisticamente entre si, com exceção das plantas infectadas por *M. enterolobii*, tratamento com a menor MSPA (Tabela 6).

Considerando o comprimento da raiz (CR), as cultivares Pitiúba (Tabela 3) e Setentão (Tabela 6) apresentaram maiores médias em plantas com *M. enterolobii*, diferindo significativamente dos demais tratamentos. Para o ‘Sempre Verde’, o tratamento controle proporcionou média superior àquelas dos demais tratamentos, que não diferiram entre si, em relação a esta variável (Tabela 4). A cultivar João Paulo II apresentou médias superiores, que não diferiram entre si, para os tratamentos com *M. arenaria* e *M. enterolobii*, diferindo significativamente dos demais tratamentos (Tabela 5).

Referente à variável massa fresca da raiz (MFR), para o ‘Pitiúba’ observou-se uma média superior em plantas com *M. enterolobii* em relação aos demais tratamentos (Tabela 3). Em ‘Sempre Verde’, um maior valor de MFR foi observado no tratamento com *M. arenaria*, diferindo significativamente das demais (Tabela 4). As médias de MFR em ‘João Paulo II’ referentes aos tratamentos *M. arenaria* e *M. enterolobii* foram superiores às médias das plantas inoculadas com os outros dois nematoides, não diferindo significativamente entre si (Tabela 5). Na cultivar Setentão observou-se maior média em plantas com *M. incognita* e menor MFR nas plantas não inoculadas (Tabela 6).

Os dados mostraram que as plantas de ‘Setentão’ apresentaram um melhor desenvolvimento, seguidas de ‘Pitiúba’, ‘Sempre Verde’ e ‘João Paulo II’, aos 45 DAS.

As Tabelas 7 e 8 mostram os resultados das variáveis a respeito da suscetibilidade das cultivares de feijão-caupi às espécies *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. enterolobii* e *M. konaensis* avaliadas no ensaio I.

Tabela 7 - Avaliação quantitativa da infectividade de *Meloidogyne* spp. sobre cultivares de feijão-caupi, considerando número de galhas (NG) e número de massas de ovos (NMO).

Tratamento	<i>M. incognita</i>		<i>M. arenaria</i>		<i>M. enterolobii</i>		<i>M. konaensis</i>	
	NG	NMO	NG	NMO	NG	NMO	NG	NMO
‘Pitiúba’	73,2 b	12,2 b	8,6 b	2,2 b	206,1 a	93,62 a	55,9 bc	6,6 b
‘Sempre Verde’	26,9 b	26,6 b	19,9 b	9,4 b	46,6 b	21,0 b	42,9 c	12,0 b
‘João Paulo II’	236,2 a	212,2 a	137,1 a	93,7 a	59,5 b	14,7 b	185,4 a	71,2 a
‘Setentão’	42,9 b	38,6 b	17,2 b	15,25 b	17,2 b	3,0 b	84,5 b	77,4 a
C.V. (%)	40,54	47,91	54,31	61,17	46,79	58,27	41,61	51,33

Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de significância.

Tabela 8 - Hospedabilidade de cultivares de feijão-caupi a *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. enterolobii* e *M. konaensis* em função do índice de massas de ovos (IMO) e do fator de reprodução.

Cultivar	Espécie	NG	NMO	IMO	C1	NO	FR	C2
‘Pitiúba’	<i>M. incognita</i>	73,2	12,2	2,3	MR	3.200,0	0,64	R
	<i>M. arenaria</i>	8,6	2,2	1,1	MR	1.866,7	0,37	R
	<i>M. enterolobii</i>	206,1	93,6	4,2	S	37.000,0	7,40	S
	<i>M. konaensis</i>	55,9	6,6	2,0	MR	5.600,0	1,65	S
‘Sempre Verde’	<i>M. incognita</i>	26,9	26,6	3,1	MOR	1.733,3	0,35	R
	<i>M. arenaria</i>	19,9	9,4	2,0	MR	666,7	0,13	R
	<i>M. enterolobii</i>	46,6	21,0	3,1	MOR	4.133,3	0,83	R
	<i>M. konaensis</i>	42,9	12,0	2,6	MR	2.666,7	0,53	R
‘João Paulo II’	<i>M. incognita</i>	236,2	212,2	5,0	S	40.666,7	8,13	S
	<i>M. arenaria</i>	137,1	93,7	4,2	S	14.933,3	2,99	S
	<i>M. enterolobii</i>	59,5	14,7	2,9	MR	1.066,7	0,21	R
	<i>M. konaensis</i>	185,4	71,2	4,1	S	16.800,0	3,36	S
‘Setentão’	<i>M. incognita</i>	42,9	38,6	3,6	LR	12.666,7	2,53	S
	<i>M. arenaria</i>	17,2	15,2	2,7	MR	5.333,3	1,07	S
	<i>M. enterolobii</i>	17,2	3,0	1,6	MR	266,67	0,05	R
	<i>M. konaensis</i>	84,5	77,4	4,1	S	15.733,33	3,15	S

Em C1: S = suscetível; LR = ligeiramente resistente; MOR = moderadamente resistente; MR = muito resistente (TAYLOR e SASSER, 1978, adaptados por HADISOEGANDA e SASSER, 1982).

Em C2: R = resistente; S = suscetível. (OOSTENBRINCK, 1966).

Observando-se a Tabela 7, constata-se que as médias referentes ao número de galhas (NG) e ao número de massas de ovos (NMO) de *M. incognita* e *M. arenaria* mostram que a cultivar com maior número de galhas foi ‘João Paulo II’, ao passo que as demais cultivares não diferiram significativamente entre si para os mesmos nematoides. Para *M. enterolobii*, a cultivar com maiores médias de NG e NMO foi ‘Pitiúba’, ao passo que demais cultivares, com menor número, não diferiram entre si estatisticamente. A maior média de NG

do tratamento referente à infecção por *M. konaensis* foi observada na cultivar João Paulo II e, em relação ao NMO, esta cultivar e ‘Setentão’ apresentaram as maiores médias, diferindo significativamente das demais. Todas as plantas de cóleus inoculadas com as quatro espécies de *Meloidogyne* (controles) apresentaram numerosas galhas e massa de ovos em suas raízes (dados não apresentados).

De acordo com a classificação de Taylor e Sasser (Tabela 8), a cultivar Pitiúba apresentou resistência moderada a três das espécies de nematoides avaliadas, com exceção a *M. enterolobii*, para a qual foi suscetível. ‘Sempre Verde’ foi moderadamente resistente a *M. incognita* e a *M. enterolobii* e muito resistente a *M. arenaria* e a *M. konaensis*. A cultivar João Paulo II comportou-se como muito resistente contudo somente a *M. enterolobii*, sendo suscetível às demais espécies. ‘Setentão’, por sua vez, apresentou suscetibilidade a *M. konaensis*, foi ligeiramente resistente a *M. incognita* e muito resistente às espécies *M. arenaria* e *M. enterolobii*.

Quanto à classificação de Oostenbrinck (1966), mais empregada, o ‘Pitiúba’ foi resistente a *M. incognita* e a *M. arenaria* com FR inferior a 1 e apresentou suscetibilidade às espécies *M. konaensis* e *M. enterolobii*, tendo para esta última alcançado o maior FR (7,4). A cultivar Sempre Verde foi resistente a todas as espécies de nematoide testadas tendo em vista o FR inferior a 1,0 em todos os casos. As cultivares João Paulo II e Setentão tiveram o mesmo comportamento apresentando ambos resistência a *M. enterolobii*, sendo suscetíveis às demais espécies. O maior FR foi observado na cultivar João Paulo II (8,13) para o *M. incognita*.

Com isso, constatou-se que a cultivar Sempre Verde apresentou resistência ao parasitismo por todas as espécies de nematoides testadas, em ambas as classificações. Inclusive, foi a única cultivar que apresentou resistência a *M. konaensis*, espécie nova e relatada somente no Ceará. Pitiúba foi a única cultivar que apresentou suscetibilidade a *M. enterolobii* para as duas classificações. Suscetibilidade de feijão-caupi a *M. enterolobii*, então denominada *M. mayaguensis*, foi também observada por Guimarães *et al.* (2003) para a cultivar IPA-206.

Outra observação a ser feita nesse ensaio, se refere ao fato de que a cultivar Pitiúba, ainda que tenha apresentado suscetibilidade a *M. enterolobii*, com numerosas galhas e elevado FR, não teve seu desenvolvimento comprometido comparado aos resultados observados com espécies às quais foi classificada como resistente (Tabela 3). Contudo, o maior valor observado no MFR (6,95 g) tem relação com o elevado NG (206,1), de aproximadamente 3 mm de tamanho (Figura 12). Por outro lado, a maior MFR (5,81g) observada em ‘João Paulo II’ foi também em plantas infectadas com o *M. enterolobii*, porém

em razão de sua resistência ao nematoide sua raiz teve maior altura (28,06 cm) e maior CR (24,29 cm).

Figura 12 - Galhas em sistema radicular de feijão-caupi 'Pitiúba' infectado por *Meloidogyne enterolobii*.



Fonte: Autor, 2018.

Ponte (1977) relatou a ocorrência natural de *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. hapla* em feijão-caupi. Em estudos conduzidos por Oliveira *et al.* (2012) com 'Pitiuba' e *M. incognita*, em campo naturalmente infestado os autores constataram, empregando da escala Taylor e Sasser (1978) modificada, que a cultivar comportou-se como altamente resistente ao nematoide e atribuíram essa reação de resistência a um aumento na atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD) e diminuição da catalase, como também aumento das proteínas relacionadas à patogênese, a glicanase, a  $\beta$ -1,3-glucanase e a peroxidase quando comparada a cultivares menos resistentes. Neste trabalho 'Pitiuba' foi inoculado com 5.000 ovos e a investigação de enzimas não foi conduzida nos ensaios.

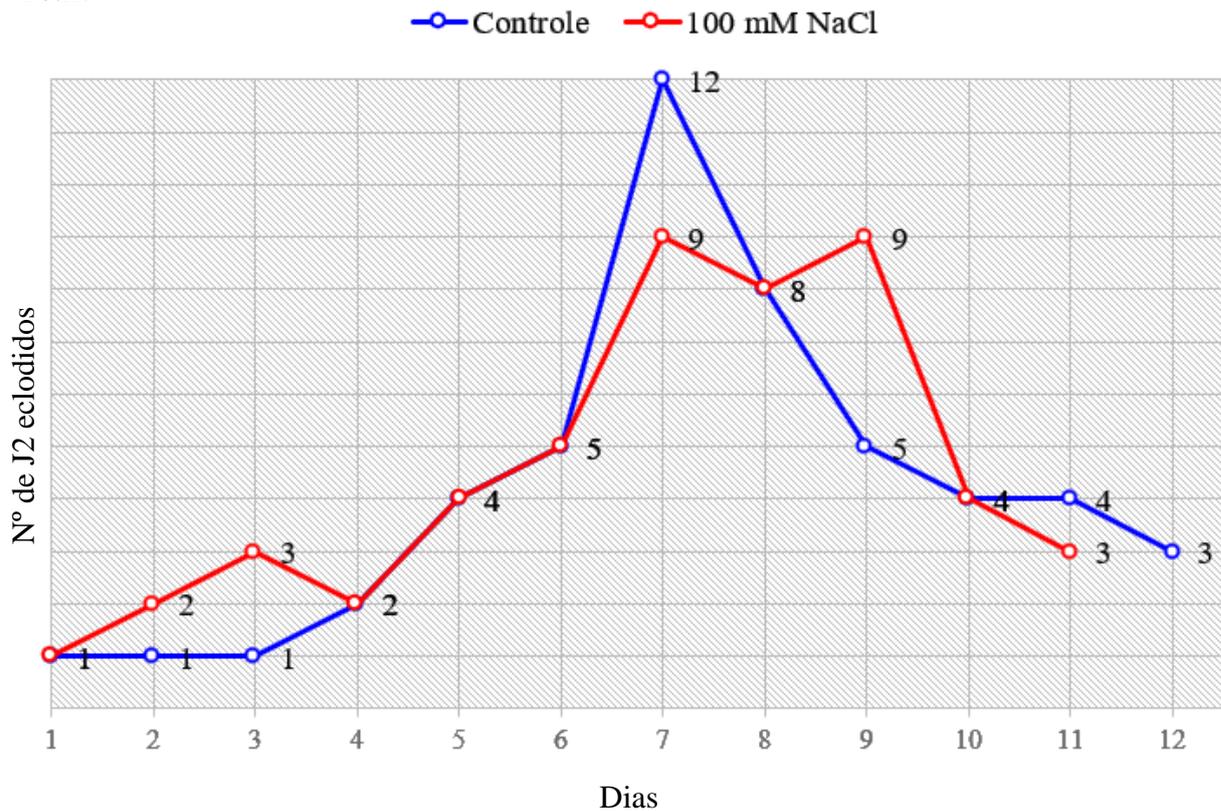
Silva *et al.* (2007) avaliaram a reação de 40 genótipos de feijão-caupi quanto à infecção por *Meloidogyne incognita* raça 1 e verificaram que os genótipos TE97-391G-2, TE97-367G-3 e TE97-299G-10 comportaram-se como altamente resistentes, baseando-se nos

IMO menores que 1. Dentre os outros genótipos testados, 40% mostraram-se muito resistente, 25% moderadamente resistente, 20% levemente resistente e apenas 7,5%, ou seja, três genótipos, se mostraram suscetíveis ao patógeno.

#### 4.2 Ensaio II - Avaliação da salinidade na eclosão de *M. enterolobii*.

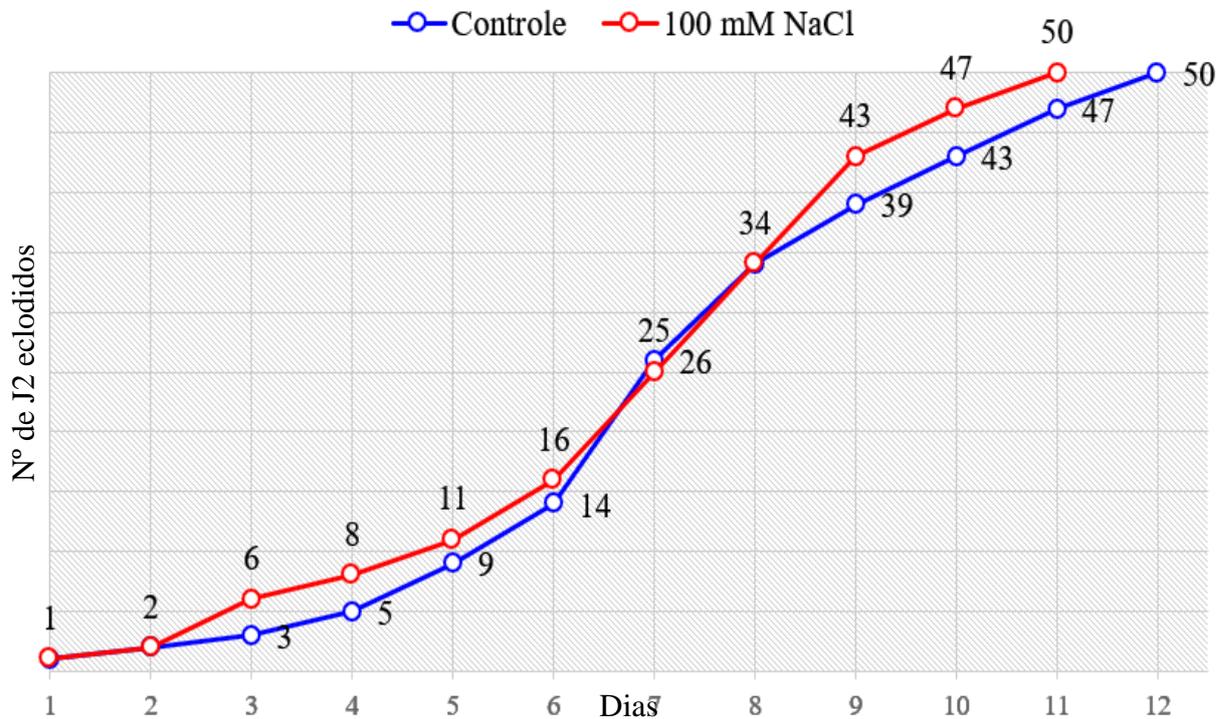
Os gráficos 1 e 2 mostram, respectivamente, as médias diária e acumulada (ao longo de 12 dias) de eclosão *in vitro* de *M. enterolobii*, incluindo os tratamentos controle (água destilada) e solução de NaCl a 100 mM.

Gráfico 1 - Avaliação da salinidade na eclosão de J2 de *Meloidogyne enterolobii* em placas de Petri.



Fonte: Autor, 2018.

Gráfico 2 - Avaliação da salinidade na eclosão acumulada de J2 de *Meloidogyne enterolobii* em placas de Petri.



Fonte: Autor, 2018.

De acordo com os dois gráficos, verificou-se que a salinidade (100mM de NaCl) não interferiu na eclosão de juvenis de *M. enterolobii*, tendo inclusive, sido finalizada um dia antes do controle (água). Com isso, verifica-se que a salinidade não afetou a formação de juvenis do primeiro e segundo estádios nem foi capaz de retardar a eclosão da fase infestante.

De uma forma geral, há carência de pesquisa com salinidade e fitonematoides no Brasil. Adrian, Evans e Perry (2005) discutem a partir de vários relatos, que 300 mM de NaCl podem induzir a quiescência de J2 de *M. javanica*, que *M. hapla* é intolerante a 800mM de NaCl e que a infectividade, desenvolvimento e eclosão de *M. incognita* foram reduzidos em altos níveis de NaCl e CaCl<sub>2</sub>. A elevada permeabilidade de nematoides aos íons tem efeito deletério e isso desequilibra vários processos biológicos. A osmorregulação é observada em juvenis, o que possibilita a sobrevivência de parte da população em solução salina. Por fim, informa que dados de ensaios *in vitro* não representam o mesmo comportamento no campo.

### 4.3 Ensaio III - Motilidade, sobrevivência e infectividade de *M. enterolobii* na fase J2 em solução salina *in vitro*.

Na Tabela 9 são apresentados os resultados referentes ao número médio de J2 imóveis após imersão em solução salina em diferentes níveis e o percentual de J2 que recuperou a motilidade após passagem em água destilada.

Tabela 9 - Dados sobre motilidade de J2 de *M. enterolobii* após 24h e 48 h de imersão em solução salina em concentrações de NaCl.

[NaCl] (mM)	J2 imóveis em 24h	J2 imóveis em 48h	Recuperados em água destilada (%)
0	0	0 f	-
25	0	0 f	-
50	0	0 f	-
75	0	0 f	-
100	0	2,2 ef	100
125	0	3,7 ef	100
150	0	5,3 e	100
175	0	13,5 d	100
200	0	24,7 c	100
300	0	41 b	100
400	0	48,7 a	100
C.V. (%)	-	15,74	-

Conforme mostra a Tabela 9, às 24h de imersão nos 11 tratamentos, todos os 50 J2 de *M. enterolobii*, em cada placa, estavam perfeitamente ativos. Às 48h constatou-se a ocorrência de imotilidade dos juvenis e observou-se que o número de J2 inativos aumentou com a elevação dos níveis de salinidade, sendo superior a 97% em 400 mM. No tratamento controle e nos níveis de 25, 50 e 75 mM, não foi observada imotilidade nos indivíduos às 48h de exposição à solução salina, por esta razão não foram transferidos para a água destilada. Todos os J2 imóveis (100%) nas soluções de concentração entre 100 e 400 mM de NaCl recuperaram o movimento logo após sua transferência para a água destilada (Tabela 9).

As plantas de tomateiro ‘Santa Clara’ inoculadas com os juvenis imersos na solução salina de 100 mM e no controle, após 45 DAI apresentaram galhas nas raízes, confirmando que a passagem na solução salina por 48 h não afetou a infectividade dos J2 (dados não apresentados).

Na segunda parte do ensaio, em que os J2 de *M. enterolobii* permaneceram por 15 dias em placas com solução salina ao nível de 100 mM de NaCl, e que 150 dentre os J2 ainda

ativos (Figura 13) foram retirados e inoculados em tomateiro ‘Santa Clara’, constatou-se, após 45 dias, a presença de muitas galhas na raiz da única inoculada (77) (Figura 14a), demonstrando que mesmo com o tempo de 15 dias em solução salina a sua infectividade não foi afetada. Número semelhante de galhas (75) foi observado em tomateiro inoculado com J2 que permaneceram em água (Figura 14b).

Figura 13 - J2 de *Meloidogyne enterolobii* ativo após 15 dias imerso em solução salina ao nível de 100 mM de NaCl.



Fonte: Autor, 2018.

Figura 14 - Galhas (exemplos apontados pelas setas) em raiz de tomateiro ‘Santa Clara’ 45 dias após inoculação de *Meloidogyne enterolobii* com: a) J2 que permaneceram por 15 dias em solução salina; b) J2 que permaneceram em água (controle).



Fonte: Autor, 2018.

#### 4.4 Ensaio IV - Infectividade de *M. enterolobii* em plantas de feijão-caupi ‘Pitiúba’ irrigadas com solução salina.

O exame ao microscópio ótico das raízes coradas de plantas de ‘Pitiúba’ irrigadas com solução salina e com água apresentaram resultados diferentes quanto ao número e desenvolvimento dos nematoides (Tabela 10).

Tabela 10 - Número de juvenis em raízes coradas de ‘Pitiúba’ com *M. enterolobii*.

Tipo de irrigação	DAI*	Planta	J2 fusiformes ou cilíndricos	J3	J4	Fêmeas
Solução salina	15	1	55	0	0	0
		2	10	0	0	0
		3	15	0	0	0
		4	19	0	0	0
Água dessalinizada	15	1	7	19	52	0
		2	10	11	12	0
		3	35	98	56	2
Solução salina	18	5	6	0	0	0
		6	2	0	0	0
		7	12	0	0	0
		8	2	0	0	0
		9	1	0	3	0
		10	3	4	10	0
Água dessalinizada	18	4	47	75	60	9
		5	30	74	127	5
		6	0	31	44	1
		7	17	89	115	4
		8	2	73	65	1

DAI: dias após a inoculação. J2: juvenis de segundo estágio. J3: juvenis de terceiro estágio. J4: juvenis de quarto estágio.

Fonte: Autor, 2018.

As alterações realizadas na metodologia original de coloração de nematoide de tecido de raiz com fucsina ácida permitiram a obtenção de uma cor rosada mais intensa dos nematoides no interior das raízes de ‘Pitiúba’ possibilitando a fácil visualização dos indivíduos, bem como a diferenciação dos estádios de desenvolvimento de *M. enterolobii*.

Em raízes de plantas irrigadas durante 17 dias com solução salina, e removidas aos 15 DAI, o exame revelou a presença de 10 a 65 J2 fusiformes e alguns cilíndricos na maioria das observações (Figura 15a). Nesta ocasião, estas raízes não apresentavam galhas.

As plantas infectadas durante esse mesmo tempo (15 dias), porém irrigadas com água dessalinizada, tinham, em suas raízes coradas, a presença de 7 a 35 juvenis da fase J2, 11 a 98 indivíduos J3 e 12 a 56 juvenis J4 e algumas fêmeas jovens (Figura 15b). Nas raízes dessas plantas observou-se um número médio de 14 galhas pequenas.

Figura 15 - *Meloidogyne enterolobii* após 15 dias da inoculação em vasos com feijão-caupi 'Pitiúba' irrigado a) com solução salina apresentando juvenis de segundo estágio (mais comuns) e b) com água dessalinizada com muitos indivíduos de terceiro e quarto estádios.



Fonte: Autor, 2018.

As plantas retiradas aos 18 DAI, mantidas sob irrigação com solução salina por 20 dias, mostraram nas suas raízes coradas e com algumas galhas, 1 a 12 J2 (Figura 16a), e, observou-se a presença de alguns indivíduos J3 e J4, porém com ausência de fêmeas.

As plantas infectadas aos 18 DAI, irrigadas com água dessalinizada, apresentavam, nas suas raízes coradas, de 0 a 47 indivíduos J2 cilíndricos e de 31 a 89 juvenis de fases J3 e 44 a 127 J4, número bem superior ao observado aos 15 dias, sendo constatadas também a presença de fêmeas em várias lâminas de região central e da extremidade da raiz e número médio de 35,4 galhas pequenas (Figura 16b).

Figura 16 - *Meloidogyne enterolobii* após 18 dias da inoculação em vasos com feijão-caupi 'Pitiúba' irrigado a) com solução salina apresentando juvenis de segundo estágio fusiformes e cilíndricos e b) com água dessalinizada já com a presença de fêmeas.



Fonte: Autor, 2018.

A diferença no número e nas fases observadas nas raízes tratadas com solução salina com relação às raízes irrigadas com água, nos dois períodos (15 e 18 dias) deveu-se, provavelmente, a um atraso na penetração e no desenvolvimento dos juvenis nas raízes de 'Pitiúba' com a irrigação de solução salina.

Dados semelhantes aos deste ensaio foram obtidos por Sumera *et al.* (2015) em experimentos conduzidos em vasos com berinjela, *M. javanica* e salinidade. Foi observada redução no desenvolvimento de juvenis, devido maior número de J2 e menor número de J3 e J4 em raízes de berinjelas tratadas com salinidade comparado ao controle com água. Segundo os autores, a salinidade e a infecção por nematoides podem comprometer o crescimento de plantas, pois as galhas e o elevado potencial osmótico devido à salinidade prejudicam a absorção de água e minerais do solo. Foi relatada redução acentuada no crescimento das berinjelas na combinação salinidade e nematoides, seguida de somente com salinidade, sendo menos reduzida a biomassa na infecção apenas pelo nematoide.

Wallace (1966) cita que o sucesso da infecção de juvenis na raiz depende de fatores como hospedeira adequada e a velocidade de penetração do J2, tendo o potencial osmótico e o pH influência menor. Edongali, Duncan e Ferris (1982), porém, verificaram que

a penetração de juvenis de *M. incognita* em tomateiros foi afetada pela concentração de solução salina no solo, o que pode ter causado o esgotamento das suas reservas corporais, levando, possivelmente, a uma menor infectividade pela redução de atividade metabólica e movimento no solo, que poderia inibir a busca pelos locais de infecção na raiz. Os autores citam ainda atraso na formação de fêmeas maduras em condições salinas, mas que as mesmas podem ser capazes de produzir ovos.

Khan, Khan e Khan (1997) em ensaios com *M. incognita* raça 2 em quiabo e pepino citaram que ocorreu menor penetração de juvenis e atraso de seu desenvolvimento nas raízes das plantas em solos salinos (50 mM). O atraso induzido pela salinidade na patogenicidade e na produção de fêmeas e de massa de ovos podem levar a uma redução da população do patógeno. De acordo com os autores, a aparente supressividade da salinidade na penetração e reprodução do nematoide, resultam em alguma melhoria para o crescimento das plantas.

Em outros estudos, com o *Tylenchulus semipenetrans* em citros, Mashela, Ducan e McSorley (1992) observaram que a salinidade parece ter estimulado a reprodução do nematoide em duas a 10 vezes, em porta-enxertos sensíveis e resistentes à salinidade. O acúmulo de sal e os ciclos de lixiviação aumentam as populações do patógeno e também podem explicar as densidades populacionais maiores do nematoide dos citros nas áreas com alta salinidade.

Neste ensaio com a cultivar Pitiúba ocorreu atraso no desenvolvimento de juvenis de *M. enterolobii* em plantas irrigadas com solução salina, as quais foram também afetadas pelo tratamento. Porém, novos ensaios seriam necessários, com uma adequação na metodologia de irrigação com solução salina, a fim de melhor monitorar os níveis de sais presentes no solo, compreender o efeito da salinidade e de diferentes níveis do NaCl na infecção e desenvolvimento de *M. enterolobii*, ou outras espécies, em feijão-caupi para investigar melhor o comportamento em campo dessa planta à infecção por *Meloidogyne* em solo com salinidade.

## 5 CONCLUSÃO

- 1- A cultivar Sempre Verde foi resistente a todas as espécies de *Meloidogyne* testadas.
- 2- 'Pitiúba' foi a única cultivar suscetível a *M. enterolobii*, ao passo que 'João Paulo II' apresentou resistência somente a esta espécie.
- 3- As cultivares João Paulo II e Setentão foram suscetíveis ao *M. konaensis*.
- 4- A eclosão de J2, a motilidade e a sobrevivência de juvenis de *M. enterolobii*, *in vitro*, não foram afetadas pela salinidade.
- 5- A salinidade não interferiu na infectividade, mas comprometeu o desenvolvimento de *M. enterolobii* em raízes de 'Pitiúba' irrigada com solução salina a 100 mM de NaCl.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, C. E. B. **Análise fisiológica, bioquímica e proteômica de respostas ao estresse salino em plantas de feijão de corda [Vigna unguiculata (L.) Walp.]**. 2012. 151 p. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012. <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/10502>
- ADRIAN A. F.; EVANS, A. A. F.; PERRY, R.N. Survival mechanisms In: PERRY, R.N., MOENS, M. e STARR, J. L. **Root-knot Nematodes**. Cambridge: CABI International, p. 201-222, 2009.
- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology** 5 ed. London: Academic Press. 922 p., 2005.
- ALCANTARA, R. M. C. M. de; *et al.* **Inoculação de feijão-caupi [Vigna unguiculata (L.) Walp.] com rizóbio BR 3267 em Teresina, PI**. Congresso Nacional de Feijão-Caupi. Anais. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2006. Disponível em:<<http://www.cpann.embrapa.br/anaisconac2006/resumos/MI07.pdf>>. Acesso em: 22 out. 2017.
- ALMEIDA, E. J. de *et al.* Novos Registros sobre Meloidogyne mayaguensis no Brasil e Estudo Morfológico Comparativo com M. incognita. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 3, p. 236-241, 2008. Disponível em:<<http://hdl.handle.net/11449/42698>>. Acesso em: 05 fev. 2018.
- ALVES, J. F. *et al.* Estabilidade fenotípica e adaptação de cultivares de feijão-de-corda, *Vigna sinensis* (L.) Savi. Fortaleza: **Revista Ciência Agronômica**, v. 13, n. 2, 1982. Disponível em:<[http://www.ccarevista.ufc.br/site/artigos\\_lista.php?sel=1982&sel2=1&sel3=13](http://www.ccarevista.ufc.br/site/artigos_lista.php?sel=1982&sel2=1&sel3=13)>. Acesso em: 05 fev. 2018.
- AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: Volume I: Princípios e conceitos**. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011.
- ANDRADE JÚNIOR, A. S. de *et al.* **Cultivo do feijão-caupi (Vigna unguiculata (L.) Walp)**. Teresina: Sistemas de Produção, 110 p. 2002. Disponível em:<<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/66591/cultivo-do-feijao-caupi-vigna-unguiculata-l-walp>>. Acesso em: 22 out. 2017.
- ARRIEL, N. H. C. *et al.* Oleaginosas, fibrosas e leguminosas. In: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Ed.). **Recursos genéticos de plantas conservados na Embrapa: histórico e inventário atualizado. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**. Brasília, DF, 2014. 183 il. Color, 2014. p. 27–49. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1041935>>. Acesso em: 22 out. 2017.
- ASSIS JÚNIOR, J. O. de *et al.* Produtividade do feijão-de-corda e acúmulo de sais no solo em função da fração de lixiviação e da salinidade da água de irrigação. Jaboticabal: **Revista Engenharia Agrícola**, vol. 27, n. 3, 2007. Disponível em:<[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-69162007000400013&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-69162007000400013&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 08 fev. 2017.

BARROS, G. B. Obtenção de plantas de feijão-caupi resistentes ao *Cowpea severe mosaic virus* e ao *Cowpea aphid-borne mosaic virus*. Botucatu: **Summa Phytopathologica**, vol. 39, n.2, 2013. Disponível em:<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-54052013000200009](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052013000200009)>. Acesso em: 16 fev. 2018.

BERNARDO, Salassier; SOARES, Antonio Alves; MANTOVANI, Everardo Chartuni. **Manual de irrigação**. 8. ed. atual. e ampl. Viçosa, MG: UFV, 2006. 625 p.

BLAXTER, M. L. *et al.* A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. **Nature**, v. 392, n. 6671, p. 71, 1998. Disponível em:<<https://www.nature.com/articles/32160>>. Acesso em: 16 fev. 2018.

BONETTI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, p.553,1981.

BRASIL. **Secretaria de Política Agrícola. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Portaria Nº 126, de 7 de agosto de 2017. Brasília/DF, 2017. Disponível em:<<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/riscos-seguro/risco-agropecuario/portarias/safra-vigente/ceara>>. Acesso em: 19 fev. 2018.

BRITO, K. Q. D. *et al.* Crescimento de genótipos de feijão-caupi irrigados com água salina. Mossoró: **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10, n. 5, p. 16-22, 2015. Disponível em:<<http://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/3622>> Acesso em: 16 fev. 2018.

CAFÉ, F. B. da S. **Avaliação da competição entre *Meloidogyne incognita* e *M. enterolobii* inoculados em olerícolas**. 2016. 49 p. Monografia (Graduação em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, 2016. Disponível em:<<http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/26628>>. Acesso em: 18 fev. 2018.

CAMPOS, F. *et al.* Ciclo fenológico em caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.): uma proposta de escala de desenvolvimento. **Revista Científica Rural**, v. 5, p. 110–116, 2000. Disponível em:<<https://goo.gl/eb2xDv>>. Acesso em: 22 out. 2017.

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

CARNEIRO, R. M. D. G. *et al.* Primeiro relato de fitonematóide *Meloidogyne mayaguensis* parasitando goiaba (*Psidium guajava* L.) cv. Paluma. **Nematologia Brasileira**, vol. 25, n. 1, 2001. Disponível em:<<http://docentes.esalq.usp.br/sbn/nbonline/ol%20252/223-228%20co.pdf>>. Acesso em: 07 fev. 2018.

CARNEIRO, R. M. D. G; ALMEIDA, M. R. A.; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* spp. populations. **Nematology**, v. 2, n. 6, p. 645-654, 2000.

COSTA, P. H. A. *et al.* Crescimento e níveis de solutos orgânicos e inorgânicos em cultivares de *Vigna unguiculata* submetidos à salinidade. São Paulo: **Revista Brasileira de Botânica**, vol. 26, n. 3, 2003. Disponível

em:<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-84042003000300002&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-84042003000300002&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em> 05 fev. 2018.

DIAS, F. T. C. *et al.* Variabilidade genética de feijão-caupi de porte ereto e ciclo precoce analisada por marcadores RAPD e ISSR. Fortaleza: **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 3, 2015. Disponível

em:<<http://www.ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/3528>>. Acesso em: 18 fev. 2018.

EDONGALI, E. A.; DUNCAN, L.; FERRIS, H. Influence of Salt concentration on infectivity and development of *Meloidogyne incognita* on tomato. **Revue Nématol.** Vol. 5, n. 1, 1982. Disponível

em:<<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.502.3588&rep=rep1&type=pdf>>. Acesso em: 23 fev. 2018.

EISENBACK, J. D.; BERNARD, E. C.; SCHMITT, D. P. Description of the Kona Coffee Root-knot Nematode, *Meloidogyne konaensis* n. sp. **The Journal of Nematology**, vol. 26, n. 4, 1994. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19279905>>. Acesso em: 07 fev. 2018.

FAO. **FAOSTAT**: Cow peas, dry. 2017. Disponível em:

<<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em: 22 out. 2017.

FERRAZ, S. *et al.* **Manejo Sustentável de Fitonematoides**. Viçosa: UFV, 306 p. 2010.

FERREIRA, D. F. **SISVAR - Sistemas de análises estatísticas**. Lavras, UFLA. 2003.

FRAGOSO, R. da R. *et al.* **Interação molecular planta-nematóide**. Embrapa Cerrados. Documentos, 2007. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/web/mobile/publicacoes/-/publicacao/571936/interacao-molecular-planta-nematóide>>. Acesso em: 06 fev. 2018.

FREIRE FILHO, F. R. *et al.* Melhoramento genético de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) na região do Nordeste. In: QUEIROZ, M. A. de; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semiárido, p. 304-334, 1999.

FREIRE FILHO, F. R. Origem, evolução e domesticação do caupi. In: ARAUJO, J. P. P. de; WATT, E. E. **O caupi no Brasil**. Goiânia: Embrapa Meio-Norte, cap. 1, p. 23-46, 1988. Disponível em:<<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/51601/origem-evolucao-e-domesticacao-do-caupi>>. Acesso em: 05 fev. 2018.

FREITAS, J. B. S. **Respostas fisiológicas ao estresse salino de duas cultivares de feijão-caupi**. 2006. 135 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006. Disponível em:<<http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/10405>>. Acesso em: 18 fev. 2018

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

- FREITAS, L. G.; NEVES, W. S.; OLIVEIRA, R. D. L. Métodos em nematologia vegetal. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa, MG: UFC, cap. 11, p. 253-291, 2007.
- FROTA, K. M. G.; MENDONÇA, S.; SALDIVA, P. H. N.; CRUZ, R. J.; ARÊAS, J. A. G. Cholesterol-lowering properties of whole cowpea seed and its protein isolate in hamsters. Chicago: **Journal of Food Science**, v. 73, n. 9, 2008.
- GLAZER, I. Survival Biology. In GAUGLER, R. **Entomopathogenic Nematology**. Londres; CABI Publishing, p. 169-187, 2002.
- GOULART, A. M. C.; CARES, J. E. e FERAZ, L. C. C. B. Ecologia e biodiversidade de nematoides- parte I. **Revisão Anual de Patologia de Plantas – RAPP**, v. 17, p. 149-188, 2009.
- GUIMARÃES, L. M. P. et al. *Meloidogyne mayaguensis* parasitism on different plant species. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 139-145, 2003.
- GUNN, C. R. **Fruits and seeds of genera in the subfamily Mimosoideae (Fabaceae)**. United States Department of Agriculture: Agriculture Research Service, Boletim Técnico N. 1681, 1984. Disponível em: <<https://naldc.nal.usda.gov/download/CAT85842079/PDF>>. Acesso em: 19 fev. 2018.
- HADISOEGANDA, W.W.; SASSER, J.N. Resistance of tomato, bean, southern pea and garden pea cultivars to root-knot nematodes based on host suitability. **Plant Disease**. v. 66, n. 2. p. 145-149. 1982.
- HARTMAN, K. M.; SASSER, J. N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal patterns morphology. In: BARKER, K. R.; CARTER, C. C.; SASSER, J. N. (Eds.). **An advanced treatise on Meloidogyne**. v. 2. Methodology. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985. p. 69-77.
- HEALD, C. M.; HEILMAN, M. D. Interaction of *Rotylenchulus reniformis*, Soil Salinity, and Cotton. **The Journal of Nematology**, vol. 2, n. 2, 1971. Disponível em: <<http://journals.fcla.edu/jon/article/view/64655>>. Acesso em: 05 fev. 2018.
- HUNT, D. J.; HANDOO, Z. A. Taxonomy, identification and principal species. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Ed.). **Root-knot Nematodes**. Cambridge: CABI International, 2009. p. 55-88.
- IBGE. **Censo agropecuário: 2006 :Brasil, grandes regiões e unidades da federação**. Rio de Janeiro. 2009. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=751>>. Acesso em: 22 out. 2017.
- KHAN, M. W; KHAN, A. A.; KHAN, M. R. Effect of soil salinity on penetration, development and pathogenicity of *Meloidogyne incognita* on okra and cucumber. **Indian Journal of Nematology**, vol. 27, n. 2, 1997. Disponível em: <<http://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ijn&volume=27&issue=2&article=008>>. Acesso em: 05 fev. 2018.

KIMATI, H. **Manual de fitopatologia: Volume II: Doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, 651 p., 2005.

LIMA, J. A. A.; SITTOLIN, I. M. e LIMA, R. C. A. **Diagnose e estratégias de controle de doenças ocasionadas por vírus**. In: FREIRE FILHO, F.R; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 519 p., 2005.

LORDELLO, L. G. E. **Nematóides das plantas cultivadas**. 8 ed. São Paulo: Nobel, 314p. 1984.

LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. **Plant parasitic nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**. 2 ed. Londres: CAB International, 877 p., 2005.

MAGGENTI, A. R.; HARDAN, A. The Effects of Soil Salinity and *Meloidogyne javanica* on Tomato. **The Journal of Nematology**, vol. 5, n. 4, 1973. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2620025/>>. Acesso em: 05 fev. 2018.

MANSO, E. C.; TENENTE, R. C. V.; FERRAZ, L. C. B., OLIVEIRA, R. S.; MESQUITA, R. **Catálogo de nematóides fitoparasitos encontrados associados a diferentes tipos de plantas no Brasil**. Brasília: Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia, 488 p., 1994.

MASHELA, P.; DUNCAN, L.; McSORLEY, R. Salinity reduces resistance to *Tylenchus semipenetrans* in citrus rootstocks. **Nematropica**, vol. 22, n. 1, 1992. Disponível em:<<http://journals.fcla.edu/nematropica/article/view/64021/61689>>. Acesso em> 05 fev. 2018.

MEDEIROS, J. F. de *et al.* Manejo do solo-água-plantas em áreas afetadas por sais. In: MEDEIROS, P. R. F. de; SILVA, E. F. de F. e; DUARTE, S. N. Salinidade em ambiente protegido. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. da S.; LACERDA, C. F. de. (eds.). **Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados**. Fortaleza: INCT Sal, 2016. Disponível em:<<https://portal.insa.gov.br/acervo-livros/980-manejo-da-salinidade-na-agricultura-ensaios-basicos-e-aplicados>>. Acesso em: 08 fev. 2018.

MEDEIROS, R. D. de; ARAÚJO, W. F.; COSTA, M. C. Efeito de sistemas de preparo do solo e métodos de irrigação sobre a cultura do caupi em várzeas em Roraima. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 2, p. 205–209, jun. 2005. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-43662005000200009](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-43662005000200009)>. Acesso em: 22 out. 2017.

MICHEREFF, S. J. **Fundamentos de Fitopatologia**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 150 p. 2001.

MONTEIRO, J. da M. dos S. *et al.* **Primeira detecção de *Meloidogyne konaensis* tando diferentes culturas no Brasil, e informações adicionais acerca da espécie**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2016. Disponível em:<<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1058240>>. Acesso em> 07 fev. 2018.

MOURA, R. M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.4, p. 209-245. 1996.

NEVES, A. V. das *et al.* **Cultivo do feijão-caupi em sistema agrícola familiar**. Teresina: Embrapa Meio-Norte: Circular Técnica 51, 15 p., 2011. Disponível em:<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/45769/1/CT51.pdf>>. Acesso em: 07 fev. 2018.

OLIVEIRA, J. R. D.; MATA, E. R. C.; DUARTE, M. E. M. Isotermas de dessecção de grãos de feijão macassar verde (*Vigna unguiculata* (L.) Walpers), variedade sempre-verde. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 6, n. 1, p. 61–70, 2004.

OLIVEIRA, J. T. A. *et al.* Differential expression of antioxidant enzymes and PR-proteins in compatible and incompatible interactions of cowpea (*Vigna unguiculata*) and the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 51, p. 145-152, 2012. Disponível em:<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0981942811003111>>. Acesso em: 07 fev. 2018.

OOSTENBRINK, M. *et al.* **Major characteristics of the relation between nematodes and plants**. Mededeelingen van de Landbouwhogeschool Wageningen, n. 66, p. 8-10, 1966.

PAIVA, J. B. *et al.* **Feijão-caupi: Melhoramento Genético no Centro de Ciências Agrárias**. Fortaleza: Edições UFC, 2014.

PONTE, J. J. **Nematoides das galhas: espécies ocorrentes no Brasil e seus hospedeiros**. Coleção Mossoroense, v. 54, 99 p., 1977.

PRISCO, J. T.; GOMES FILHO, E.; MIRANDA, R. de S. Physiology and biochemistry of plants growing under salt stress. In: GHEYI, *et al.* (eds.). **Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados**. Fortaleza: INCT Sal, p. 163-180, 2016. Disponível em:<<https://portal.insa.gov.br/acervo-livros/980-manejo-da-salinidade-na-agricultura-ensaios-basicos-e-aplicados>>. Acesso em: 08 fev. 2018.

RIBEIRO, M. R. Origem e classificação dos solos afetados por sais. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. da S.; LACERDA, C. F. de. (eds.). **Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados**. Fortaleza: INCT Sal, 2016. Disponível em:<<https://portal.insa.gov.br/acervo-livros/980-manejo-da-salinidade-na-agricultura-ensaios-basicos-e-aplicados>>. Acesso em: 08 fev. 2018.

ROSA, J.M.O; WESTERICH, J.N.; WILCKEN, S.R.S. Reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em olerícolas e plantas utilizadas na adubação verde. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 4, p. 826-835, 2015. Disponível em:<<http://www.ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/3708/1244>>. Acesso em: 15 fev. 2018.

SANTANA, C. G. *et al.* Análise da expressão gênica diferencial de *Vigna unguiculata* (FEIJÃO-CAUPI) infectada com *Meloidogyne incognita*. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, 209. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. Disponível em:<<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/189679/analise>>

da-expressao-genica-diferencial-de-vigna-unguiculata-feijao-caupi-infectada-com-meloidogyne-incognita>. Acesso em> 07 fev. 2018.

SANTOS, A. A. dos; FREIRE FILHO, F. R.; CARDOSO, M. J. **Ocorrência de viroses em feijão macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) no Estado do Piauí**. Embrapa Meio-Norte, 1982. Disponível em:<<https://www.embrapa.br/meio-norte/busca-de-publicacoes/-/publicacao/53946/ocorrencia-de-viroses-em-feijao-macassar-vigna-unguiculata-l-walp-no-estado-do-piaui>>. Acesso em: 16 fev. 2018.

SASSER, J. N. Root-knot nematodes: a global menace to crop production. **Plant Disease**, v.64, n. 1, 1980.

SILVA JÚNIOR, L. G. de A.; GHEYI, H. R.; MEDEIROS, J. F. de. Composição química de águas do cristalino do Nordeste brasileiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 1999, vol.3, n.1, 1999. Disponível em:<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-43661999000100011&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-43661999000100011&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 18 fev. 2018.

SILVA, G. S. *et al.* Reação dos genótipos de feijão caupi a *Meloidogyne incognita* raça 1. **Nematologia Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 1-3, 2007. Disponível em:<[https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=pc&id=69729&biblioteca=vazio&busca=autoria:"SILVA,%20G.%20S."&qFacets=autoria:"SILVA,%20G.%20S."&sort=&pagina=1](https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=pc&id=69729&biblioteca=vazio&busca=autoria:)>. Acesso em: 16 fev. 2018.

SILVA, M. do C. L. da; SANTOS, C. D. G.; SILVA, G. S. da. Espécies de *Meloidogyne* associadas a vegetais em microrregiões do estado do Ceará. Fortaleza: **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, n. 4, 2016. Disponível em:<<http://www.ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/4097>>. Acesso em: 07 fev. 2018.

SILVA, M. G.; AMORIM, S. M. C. Estresse salino em plantas de *Spondias tuberosa* Arruda (Câmara) colonizadas com fungos micorrízicos arbusculares. Mossoró: **Revista Caatinga**, v. 22, n. 2, p. 91-96, 2009. Disponível em:<<https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/caatinga/article/view/226>>. Acesso em: 16 fev. 2018.

SIPES, B. S. *et al.* Esterase polymorphism in *Meloidogyne konaensis*. **Journal of nematology**, v. 37, n. 4, p. 438, 2005. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2620989/>>. Acesso em: 18 fev. 2018.

SOBRINHO, A. C. Principais doenças do feijão-caupi no Brasil. In: BASTOS, E. A. (Coord.). **A cultura do feijão-caupi no Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Divisão de Análise de Risco de Pragas, 2016. Disponível em:<<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1065591/principais-doencas-do-feijao-caupi-no-brasil>>. Acesso em: 18 fev. 2018.

SOUSA, R. A. *et al.* Crescimento e nutrição mineral do feijão-de-corda em função da salinidade e da composição iônica da água de irrigação. Recife: **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.2, n.1, 2007. Disponível em:<<http://www.agraria.pro.br/sistema/index.php?journal=agraria&page=article&op=viewArt>>

icle&path%5B%5D=83> 07 fev. 2018.

SUMERA *et al.* Effect of salinity and root-knot nematode on growth of eggplant (*Solanum melongena* L.). **FUUAST Journal of Biology**, vol. 5, n. 1, 2015. Disponível em:<<https://fuuast.edu.pk/biology%20journal/images/pdfs/June,%202015/13-%20Sumaira-%2093-97.pdf>>. Acesso em> 05 fev. 2018.

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

TENENTE, R. C. V.; BETTIOL, E. M.; CARVALHO, E. R. de. **Bibliografia brasileira de nematoides**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 400 p., 2002.

TIHOHOD, D. **Nematologia Agrícola Aplicada**. 372 p. Jaboticabal: FUNEP, 1993.

TRUDGILL, D.L.; BLOK, V.C. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 39, p.53-77, 2001. Disponível em:<<http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.phyto.39.1.53>>. Acesso em: 23 fev. 2018.

TÜRKAN, I.; DEMIRAL, T. Recent developments in understanding salinity tolerance. **Environ and Experimental Botany**, vol. 67, n. 1, 2009. Disponível em:<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098847209001038?via%3Dihub>>. Acesso em: 07 fev. 2018.

WALLACE, H. R. Factors influencing the infectivity of plant parasitic nematodes. **Proceedings of The Royal Society B**, vol. 164, n. 48. Disponível em:<<http://rspb.royalsocietypublishing.org/content/164/997/592>>. Acesso em: 24 fev. 2018.

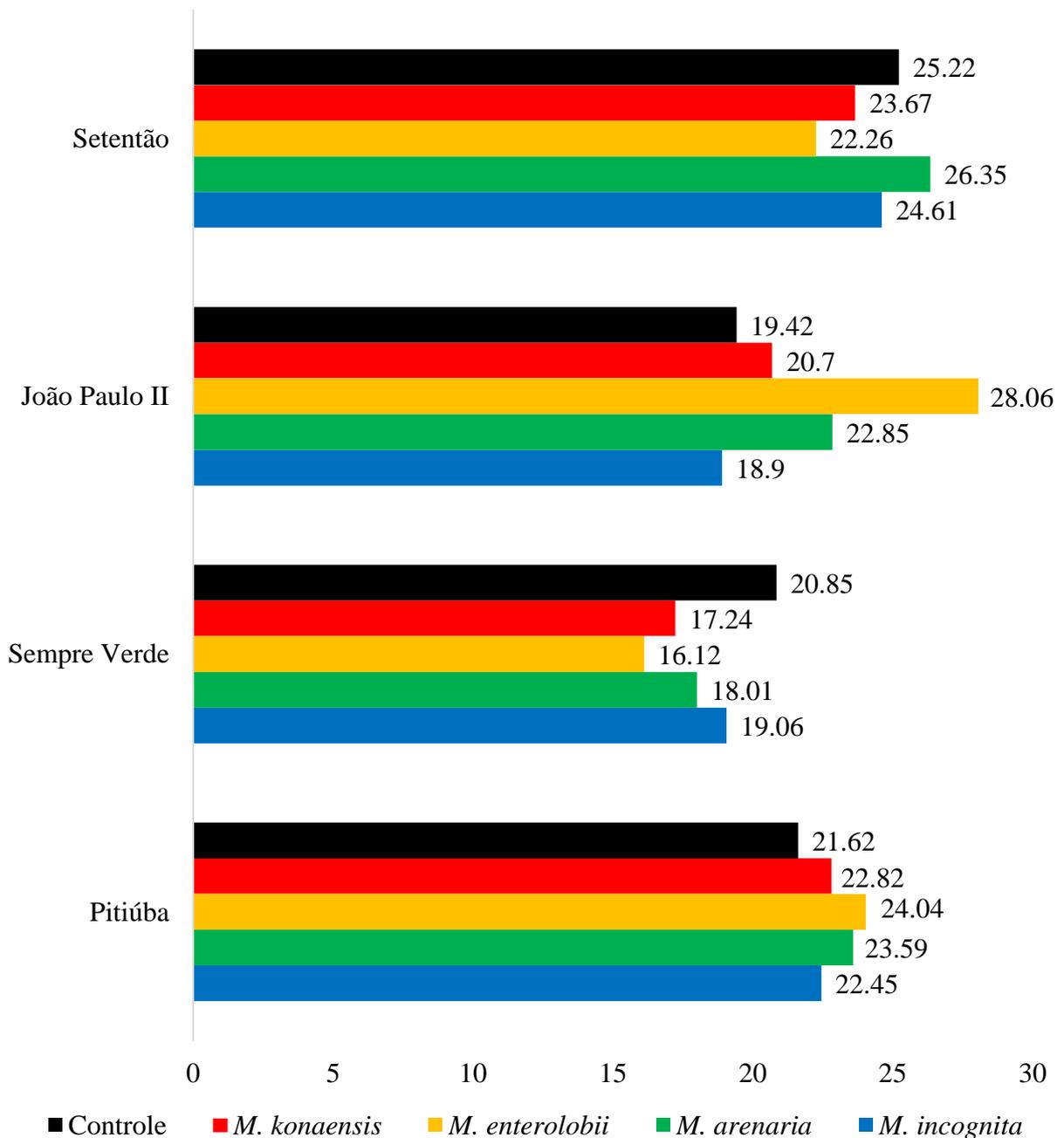
XU, J. H. *et al.* Characterisation of *Meloidogyne* species from China using isozyme phenotypes and amplified mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphism. **European Journal of Plant Pathology**, vol. 110, 2004.

YANG, B.; EISENBACK, J. D. *Meloidogyne enterolobii* n. sp. (Meloidogynidae), a Root-knot Nematode Parasitizing Pacara Earpod Tree in China. **The Journal of Nematology**, vol. 15, n. 3, 1983. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2618283/>>. Acesso em: 07 fev. 2018.

## APÊNDICE A - GRÁFICOS COM DADOS REFERENTES AOS RESULTADOS OBTIDOS NO ENSAIO I

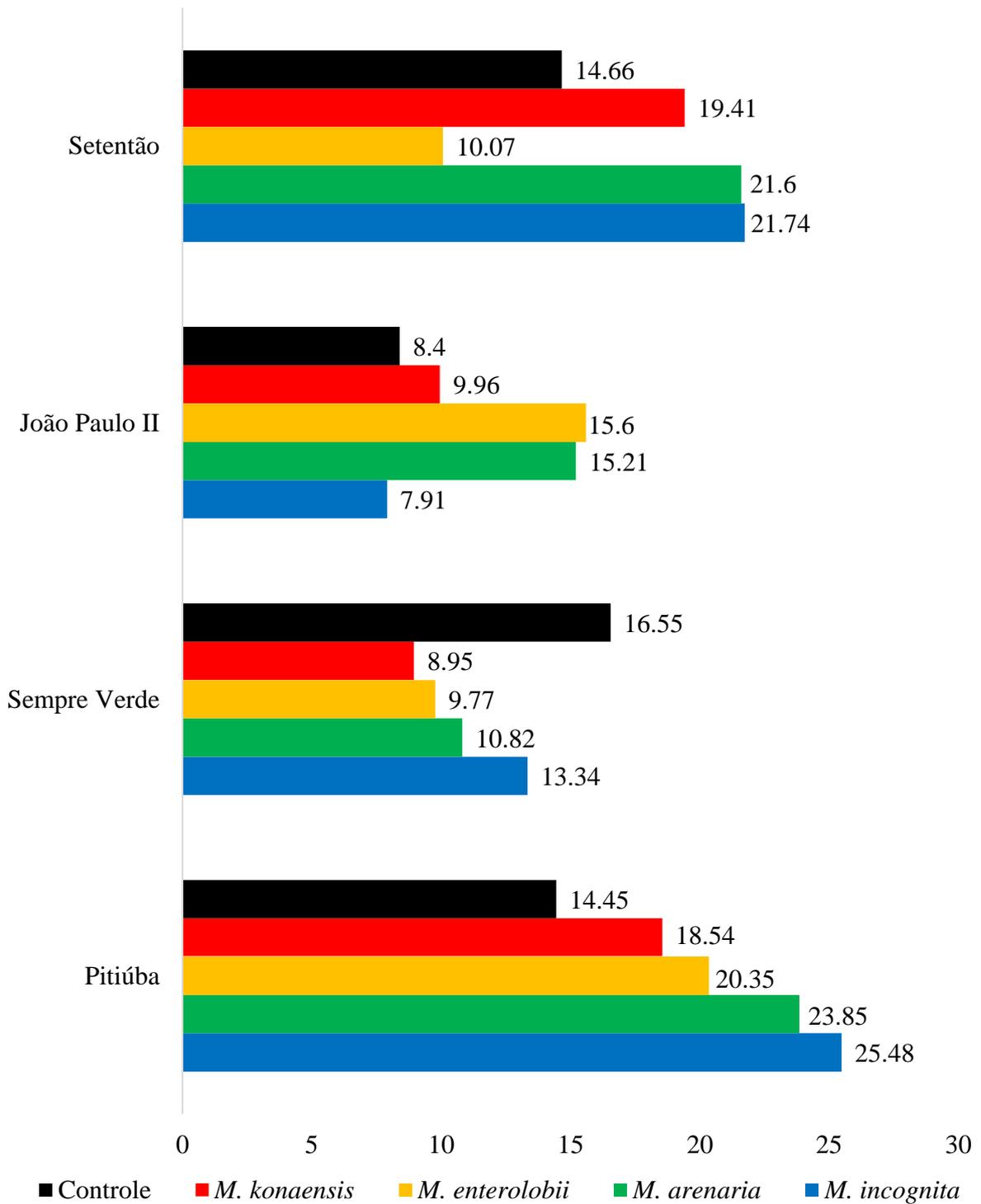
Os gráficos 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 apresentam os valores médios em relação às variáveis agronômicas avaliadas para as cultivares inoculadas com as quatro espécies de *Meloidogyne* e seus respectivos controles, obtidos a partir dos resultados do ensaio I.

Gráfico 3 - Valores médios de altura da parte aérea (APA, cm) referentes às cultivares de feijão-caupi infectadas por *Meloidogyne* spp.



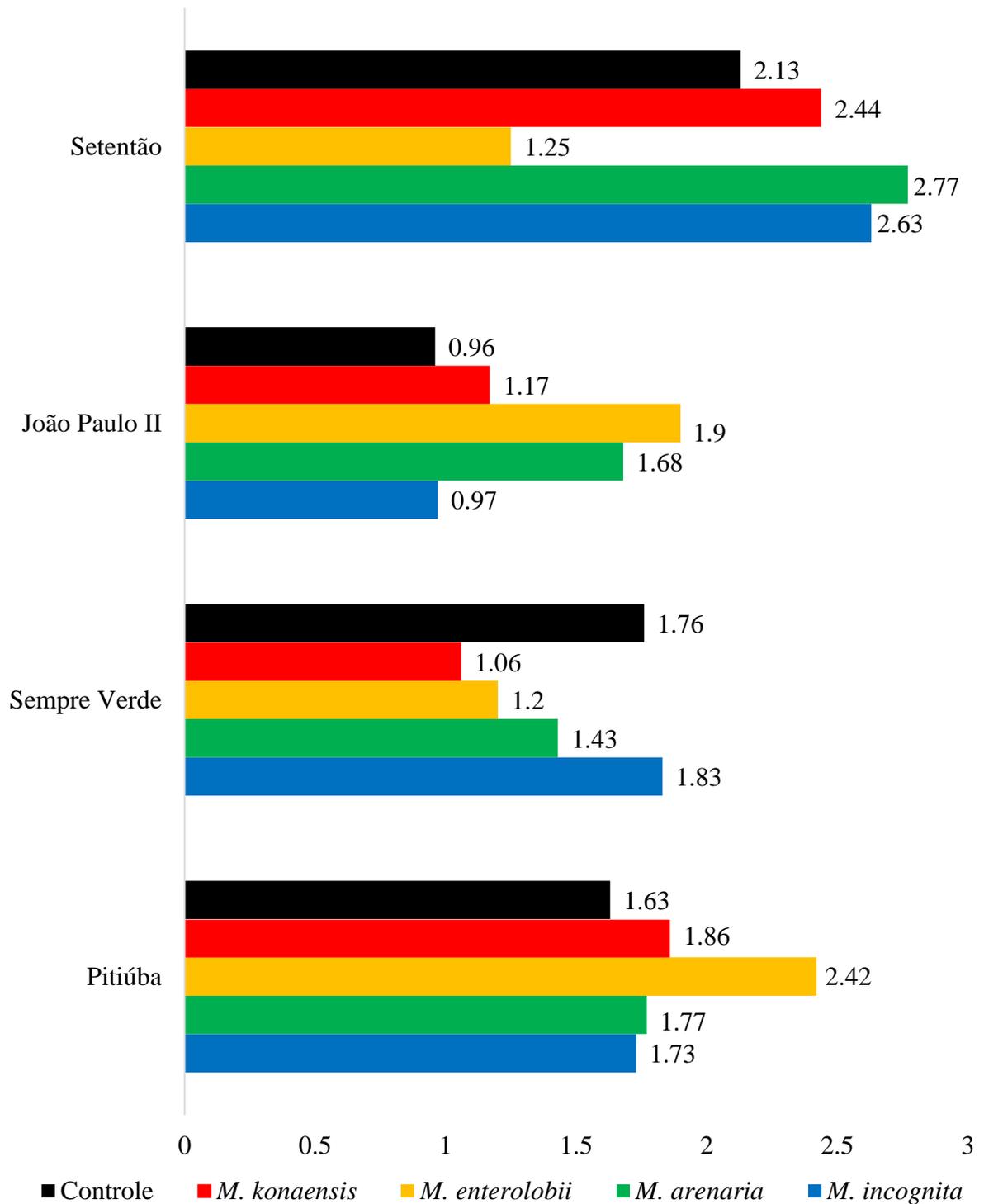
Fonte: Autor, 2018.

Gráfico 4 - Valores médios de massa fresca da parte aérea (MFPA, g) referentes às cultivares de feijão-caupi infectadas por *Meloidogyne* spp.



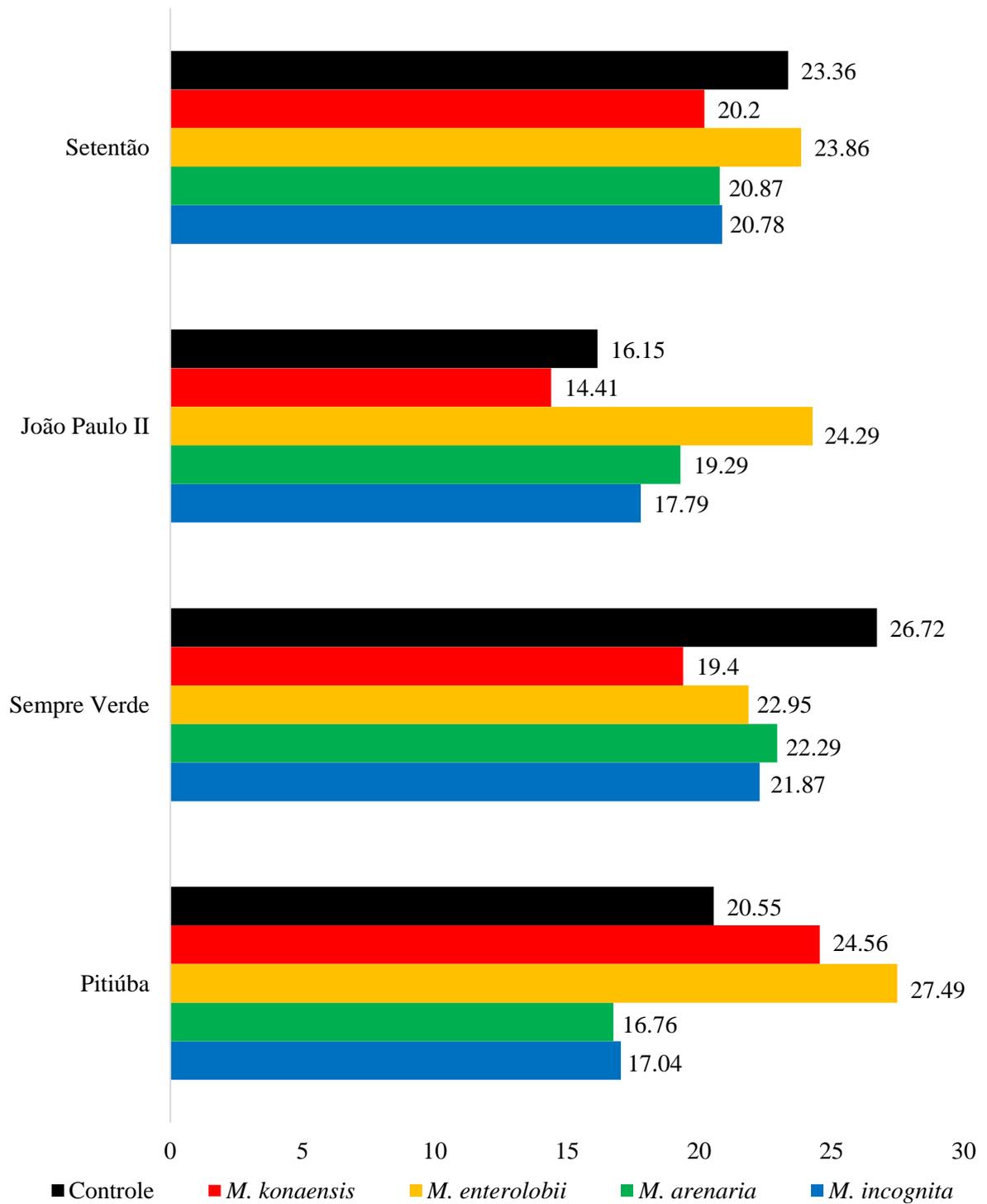
Fonte: Autor, 2018.

Gráfico 5 - Valores médios de massa seca da parte aérea (MSPA) referentes às cultivares de feijão-caupi infectadas por *Meloidogyne* spp.



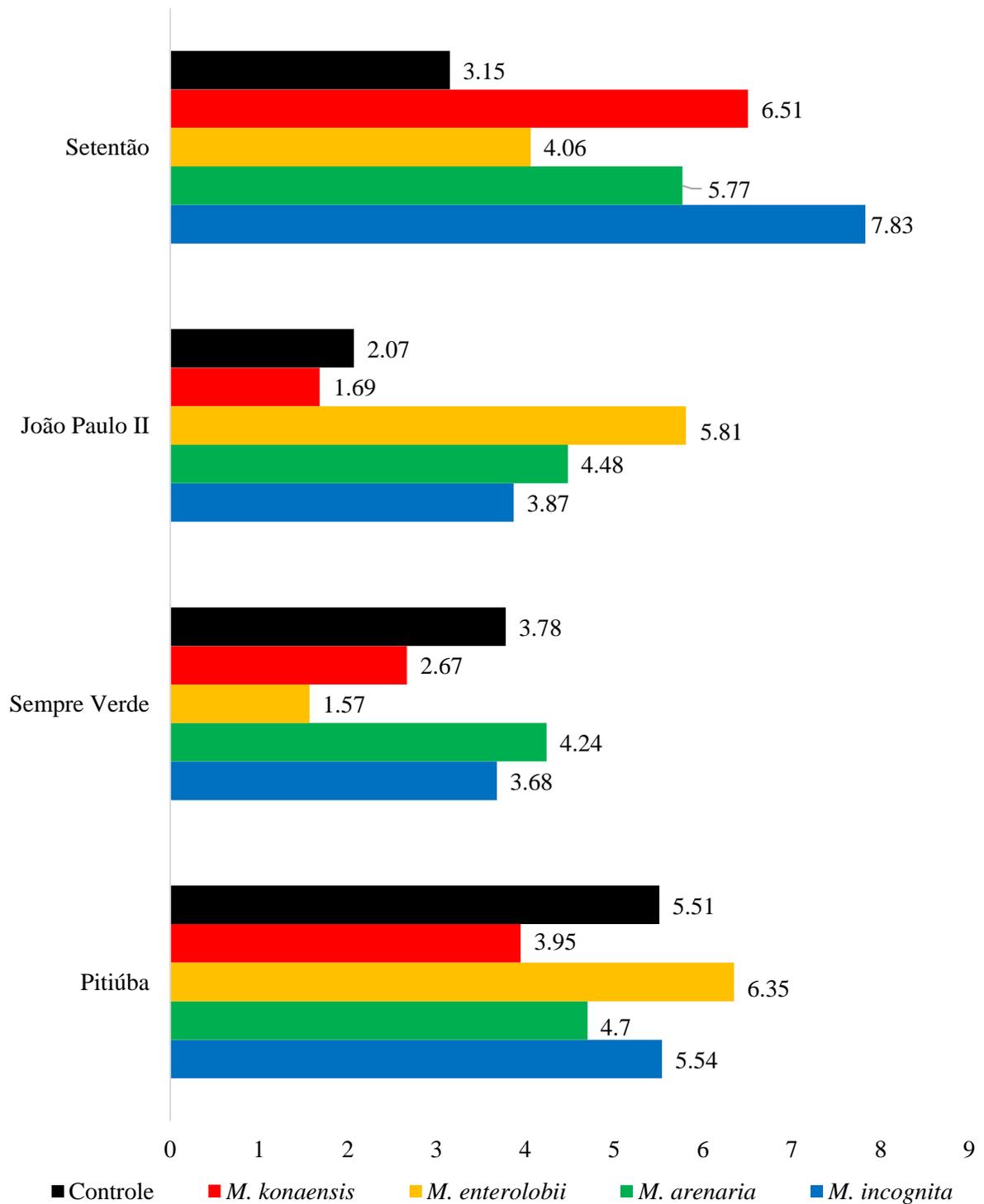
Fonte: Autor, 2018.

Gráfico 6 - Valores médios de comprimento da raiz (CR) referentes às cultivares de feijão-caupi infectadas por *Meloidogyne* spp.



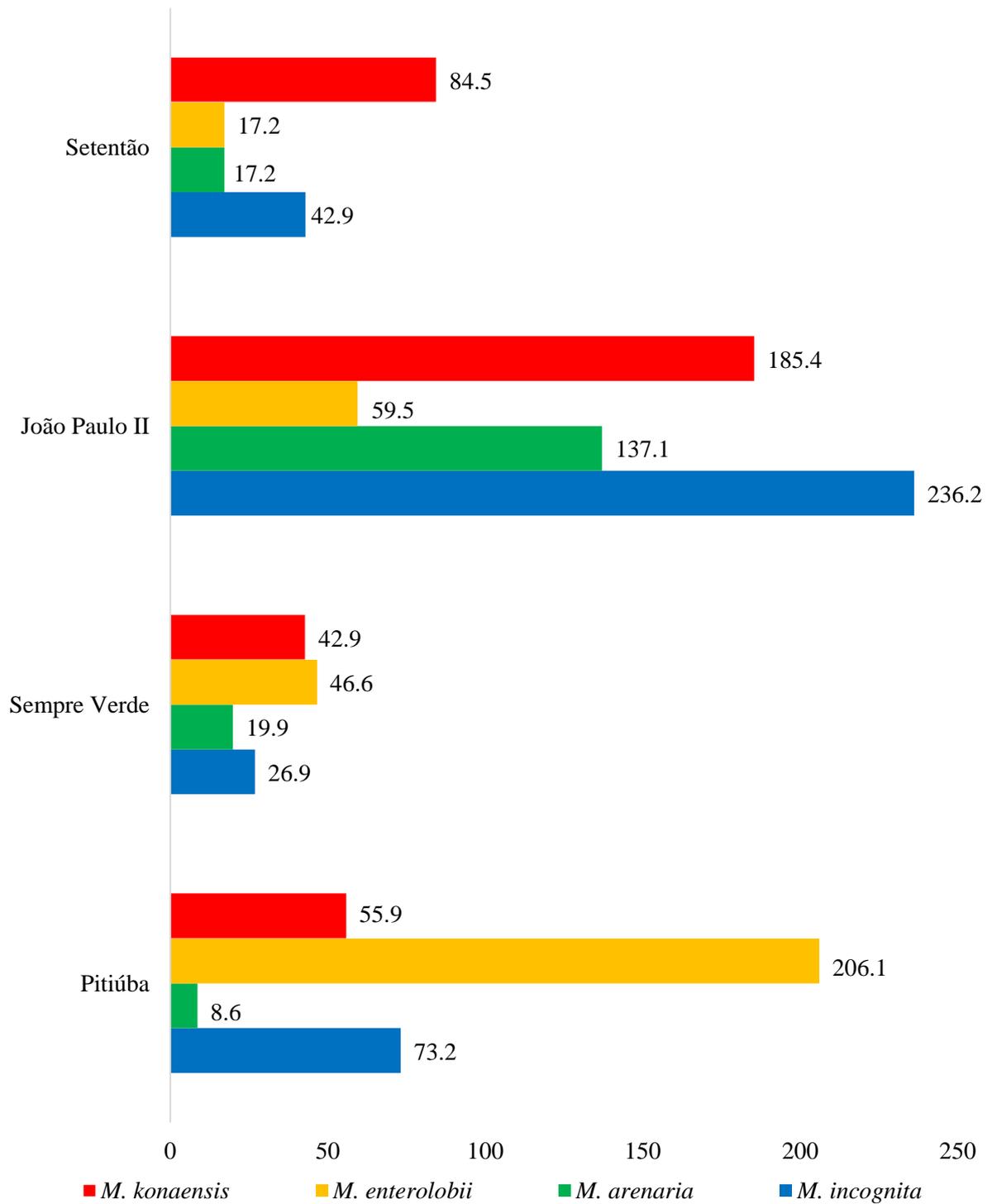
Fonte: Autor, 2018.

Gráfico 7 - Valores médios de massa fresca da raiz (MFR, g) referentes às cultivares de feijão-caupi infectadas por *Meloidogyne* spp.



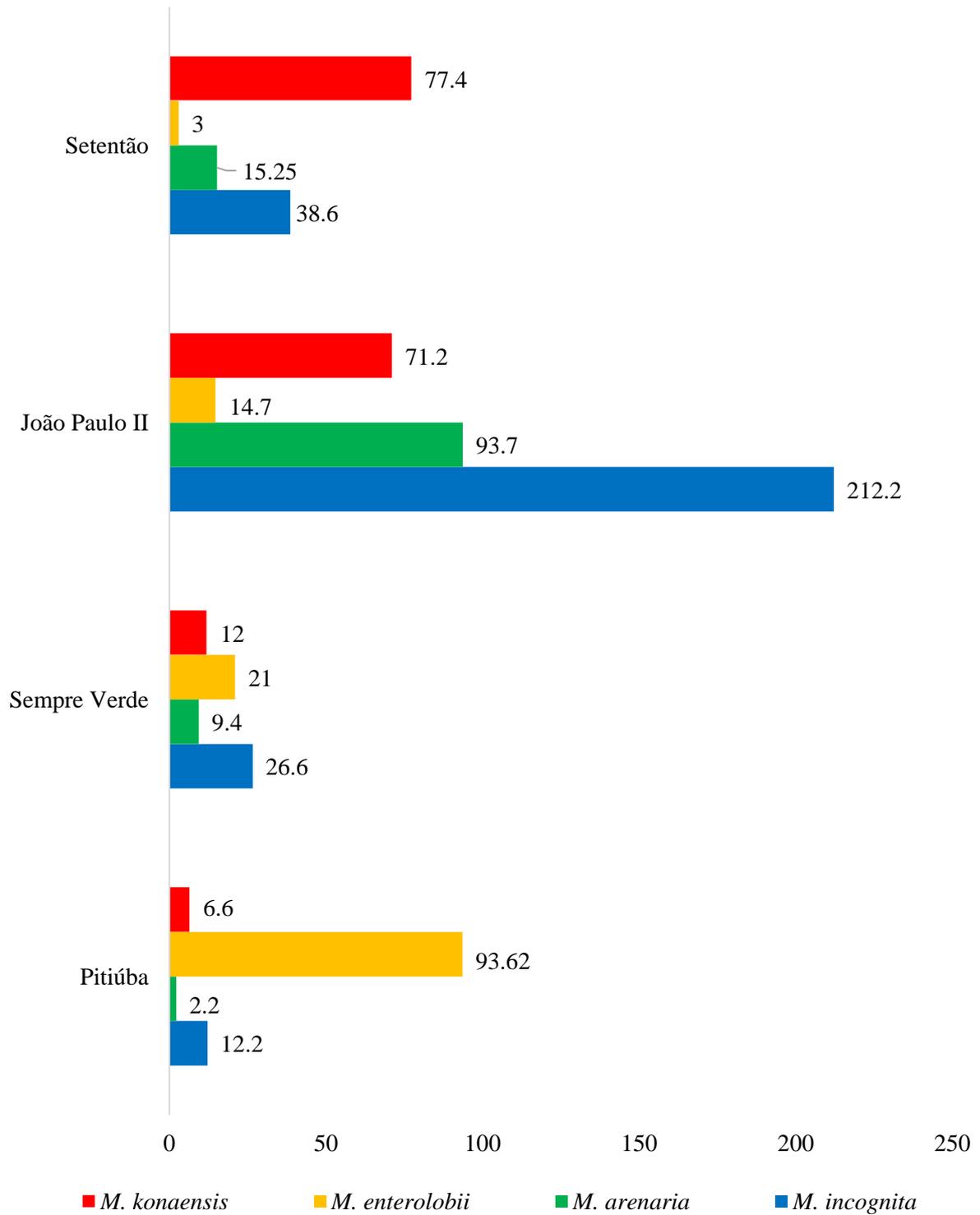
Fonte: Autor, 2018.

Gráfico 8 - Avaliação quantitativa da infectividade de *Meloidogyne* spp. sobre cultivares de feijão-caupi, considerando número de galhas (NG).



Fonte: Autor, 2018.

Gráfico 9 - Avaliação quantitativa da infectividade de *Meloidogyne* spp. sobre cultivares de feijão-caupi, considerando número de massas de ovos (NMO).



Fonte: Autor, 2018.

**APÊNDICE B - IMAGENS REFERENTES ÀS LÂMINAS PREPARADAS COM  
*Meloidogyne enterolobii* PARA O ENSAIO IV**

Figura 17 - *Meloidogyne enterolobii* após 15 dias da inoculação em vasos com feijão-caupi 'Pitiúba' irrigado com solução salina. Fases presentes nas raízes coradas com solução contendo fucsina ácida, mostrando juvenis de segundo estágio, mais comuns (esquerda), e juvenis do terceiro e quarto estádios, pouco frequentes (direita).



Fonte: Autor, 2018.

Figura 18 - *Meloidogyne enterolobii* após 15 dias da inoculação em vasos com feijão-caupi 'Pitiúba' irrigado com água dessalinizada. Fases presentes nas raízes coradas com solução contendo fucsina ácida, mostrando juvenis de terceiro e quarto estádios (esquerda) e fêmeas (direita).



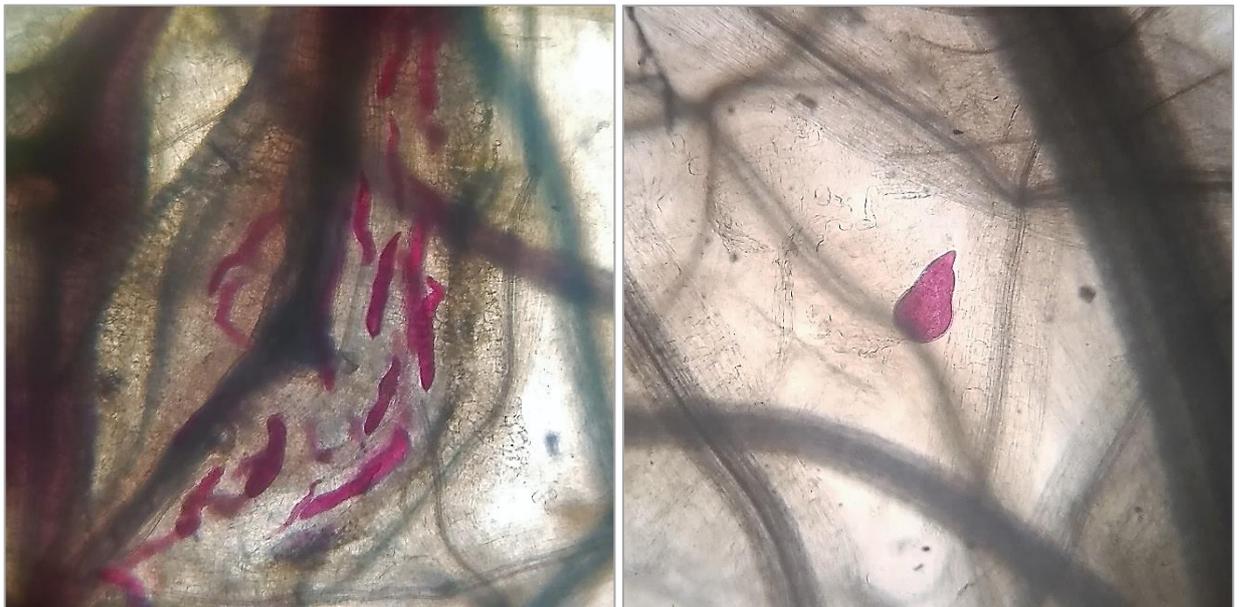
Fonte: Autor, 2018.

Figura 19 - *Meloidogyne enterolobii* após 18 dias da inoculação em vasos com feijão-caupi 'Pitiúba' irrigado com solução salina. Fases presentes nas raízes coradas com solução contendo fucsina ácida, mostrando juvenis de segundo estágio fusiforme e cilíndrico, mais comuns (esquerda), e juvenis de terceiro e quarto estádios, menos frequentes (direita).



Fonte: Autor, 2018.

Figura 20 - *Meloidogyne enterolobii* após 18 dias da inoculação em vasos com feijão-caupi 'Pitiúba' irrigado com água dessalinizada. Fases presentes nas raízes coradas com solução contendo fucsina ácida, mostrando juvenis de terceiro e quarto estádios (esquerda) e fêmeas, mais comuns (direita).



Fonte: Autor, 2018.