

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

LANA PAOLA DA SILVA CHIDICHIMA

Reação de plantas de cobertura a diferentes populações de *Meloidogyne javanica*

Maringá  
2020

LANA PAOLA DA SILVA CHIDICHIMA

Reação de plantas de cobertura a diferentes populações de *Meloidogyne javanica*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Área de concentração: Proteção de Plantas

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Claudia Regina Dias Arieira.

Maringá  
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

C533r Chidichima, Lana Paola da Silva  
Reação de plantas de cobertura a diferentes populações de *Meloidogyne javanica* / Lana Paola da Silva Chidichima. -- Maringá, 2020.  
iv, 58 f.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Claudia Regina Dias Arieira.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2020.

1. Nematoides das galhas - *Meloidogyne javanica*.  
2. Nematoides das galhas - Variabilidade patogênica.  
3. Plantas antagonistas. 4. *Meloidogyne javanica* - Controle. I. Arieira, Claudia Regina Dias, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título

CDD 23.ed. 631.5

# FOLHA DE APROVAÇÃO

LANA PAOLA DA SILVA CHIDICHIMA

Reação de plantas de cobertura a diferentes populações de *Meloidogyne javanica*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

## COMISSÃO JULGADORA

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Claudia Regina Dias Arieira  
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Dr.<sup>a</sup> Andressa Cristina Zamboni Machado  
Instituto Agronômico do Paraná - IAPAR

Dr.<sup>a</sup> Lais Fernanda Fontana  
Universidade Estadual de Maringá

Aprovada em: 20/02/2020

Local de Defesa: Bloco J45- sala de reuniões II, Maringá-PR

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pelo dom da vida e guiar meus passos até este momento. N'Ele tudo posso.

Meu agradecimento ao meu esposo, Wanderley, que desde o principio me apoiou e me confortou nos momentos difíceis.

Ao meus pais, os reponsáveis por ter chegado até aqui. Foi pelo esforço de vocês que sou quem sou hoje e serei eternamente grata. Á toda minha família que sempre me deu apoio e se alegrou com as minhas conquistas.

Um agradecimento mais que especial à minha orientadora Cláudia Regina Dias Arieira, não apenas pela orientação, mas pela paciência, humanidade e sentimento maternal a qual me abraçou e me confortou. Obrigada por todo ensinamento e, principalmente, pela oportunidade que me foi dada.

Á toda a equipe do laboratório, que me acolheram e me ensinaram. Obrigada por tornarem os dias de mestrado mais leves e alegres.

A CAPES Coordenadoria de Aperfeiçoamento Pessoal de Ensino Superior, pela concessão da bolsa.

Meu muito obrigada!

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>2</b>
Nematoide das galhas .....	2
Reprodução e variabilidade patogênica de nematoides das galhas.....	4
Controle de nematoide das galhas na cultura da soja .....	7
Rotação de culturas .....	8
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>11</b>
<b>CAPÍTULO 1: Susceptibility of <i>Crotalaria</i> species to diferente populations of <i>Meloidogyne javanica</i> .....</b>	<b>188</b>
ABSTRACT.....	200
INTRODUCTION .....	200
MATERIAL AND METHODS.....	222
RESULTS.....	244
DISCUSSION.....	266
CONCLUSIONS .....	288
REFERENCES .....	29
<b>CAPÍTULO 2: Response of green manure crops and millet cultivars to different populations of <i>Meloidogyne javanica</i>.....</b>	<b>39</b>
ABSTRACT .....	<b>Erro! Indicador não definido.0</b>
RESUMO.....	<b>Erro! Indicador não definido.1</b>
INTRODUCTION .....	<b>Erro! Indicador não definido.2</b>
MATERIAL AND METHODS.....	<b>Erro! Indicador não definido.3</b>
RESULTS AND DISCUSSION.....	<b>Erro! Indicador não definido.6</b>
CONCLUSION .....	<b>Erro! Indicador não definido.2</b>
REFERENCES .....	<b>Erro! Indicador não definido.3</b>
<b>CONCLUSÃO GERAL .....</b>	<b>58</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Table 1.1. <i>Meloidogyne javanica</i> populations and their respective localities. ....</b>	<b>35</b>
<b>Table 1.2. Gall index of different populations of <i>Meloidogyne javanica</i> inoculated in <i>Crotalaria</i> species and soybean. ....</b>	<b>36</b>
<b>Table 1.3. Population density of different populations of <i>Meloidogyne javanica</i> inoculated in <i>Crotalaria</i> species and soybean. ....</b>	<b>37</b>
<b>Table 1.4. Reproduction factor of different populations of <i>Meloidogyne javanica</i> inoculated in <i>Crotalaria</i> species and soybean. ....</b>	<b>38</b>

## ABSTRACT

CHIDICHIMA, L.P.S. Maringá State University (UEM), February 2020. **Reaction of cover to different populations of *Meloidogyne javanica*.** Adviser: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia Regina Dias Arieira.

*Meloidogyne javanica* is considered to be one of the main phytonematoids due to its wide territorial spread and host range. Among the methods for management, crop rotation with the use of bad host plants or antagonists stands out. However, *M. javanica* polyphagy makes it difficult to choose non-host cultures to compose the management system. Still, there are hypotheses that this species of nematode may present a variable pathogenicity between different populations. In this sense, the present study aimed to evaluate the reaction of cover plants to different populations of *Meloidogyne javanica*. The samples were collected between March and May / 2017 and were sent to the State University of Maringá, where they were kept in a greenhouse for multiplication. After multiplication, the samples were used to inoculate seedlings of *Crotalaria spectabilis*, *C. ochroleuca*, *C. juncea*, turnip (*Raphanus sativus*), dwarf pigeon (*Cajanus cajan*) cv. Iapar 43, buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) cv. IPR 92 - Altar, three cultivars of millet (BRS 1501, ADR 300 and ADR 500) and soybean (control) and 60 days after inoculation (DAI) evaluated for gall index (IG), nematode per gram of root and factor of reproduction (FR). *M. javanica* populations showed pathogenic variations in all studied plants. Soy behaved as susceptible to all populations.

**Keywords:** Pathogenic variability. Root-knot nematode. Cover crop. Antagonistic plants.



## INTRODUÇÃO GERAL

O gênero *Meloidogyne* é considerado o principal entre os fitonematoides, por limitar a produtividade de inúmeras culturas agrícolas em todo o mundo. O nematoide é comumente conhecido como nematoide das galhas e, dentre as espécies, destaca-se *Meloidogyne javanica* (Treb) Chitwood, pela ampla disseminação territorial, principalmente nas regiões de produção agrícola, e gama de hospedeiros (PINHEIRO et al., 2010). Entre as culturas consideradas hospedeiras deste nematoide estão algodão (*Gossypium hirsutum* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), soja (*Glycines max* L.), tomate (*Lycopersicon lycopersicum* L.), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), café (*Coffea arabica* L.) e diversas hortaliças (INOMOTO; ASMUS, 2009; OLIVEIRA et al., 2011; PINHEIRO et al., 2014; RODRIGUES et al., 2014).

Plantas atacadas por *M. javanica* geralmente apresentam sintomas característicos que são as galhas no sistema radicular, as quais interferem na absorção e transporte interno de solutos e fotossimilados, levando ao surgimento de sintomas reflexos na parte aérea, incluindo crescimento reduzido e heterógeno, clorose, murcha nas horas mais quentes do dia, podendo ocasionar a morte prematura de plantas (MAISTRELLO et al., 2010).

O manejo do nematoide deve ser planejado e integrar vários métodos, principalmente baseado nos controles genético, químico, biológico e cultural (ARAÚJO et al., 2012). Dentre os métodos culturais para manejo de *M. javanica*, se destaca a rotação de culturas, com a utilização de plantas má hospedeiras ou antagonistas (MACHADO et al., 2015).

A prática da rotação de culturas permite ao sistema de cultivo quebrar o ciclo do patógeno, além de promover a reciclagem de nutrientes do solo (SILVA, 2010; ANSELMO et al., 2014). O sucesso do método depende da escolha das espécies que irão compor o sistema de rotação, pois a planta de cobertura escolhida deve garantir a redução da população de nematoides presentes na área. No entanto, a polifagia de *M. javanica* dificulta a escolha de culturas não hospedeiras para compor o sistema de rotação para manejo (RIBEIRO et al., 2007). Além disso, há hipóteses que esta espécie pode apresentar patogenicidade variável entre diferentes populações.

*Meloidogyne javanica* reproduz-se por partenogênese mitótica obrigatória, resultando assim em descendentes clonais com baixa capacidade de gerar novas combinações de genótipos (CASTAGNONE-SERENO et al., 2013; EDHAN et al., 2017). Desta forma, a

capacidade dos organismos partenogênicos em se adaptar a mudanças das condições ambientais é considerada limitada. Contudo, alguns estudos demonstraram que algumas populações da mesma espécie podem responder rapidamente a condições seletivas do ambiente, como estresse abiótico ou adaptação térmica (LOMBARDO; ELKINTON, 2017; ROBIN et al., 2017). Ainda que os clones gerados pelas populações de *M. javanica* compartilham o mesmo patrimônio genético, contudo podem apresentar variações fenotípicas quando expostos a ambientes desfavoráveis ou a interação com plantas hospedeiras com genes de resistência (CASTAGNONE-SERENO et al., 2013). Assim, espécimes mais agressivos e virulentos dentro de uma população podem infectar plantas com genes de resistência, com aumento destes indivíduos ao longo das gerações (CASTAGNONE-SERENO et al., 2019).

A variação na agressividade e na virulência dessas populações não são resultado de um único fator, já que a sua distribuição pode ser considerada ao acaso nas áreas de produção (CASTAGNONE-SERENO et al., 2019). Neste sentido, as populações de *M. javanica* presentes nas áreas agrícolas, quando expostas a diferentes condições ambientais, solos e interações com hospedeiros distintos, podem apresentar patogenicidade variável frente às plantas, incluindo aquelas utilizadas como cobertura verdes para o manejo dos nematoides, causando um efeito reverso. Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a reação de plantas de cobertura a diferentes populações de *Meloidogyne javanica*.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### Nematoide das galhas

Os nematoides estão entre os principais patógenos da agricultura, especialmente devido à dificuldade no controle e aos danos severos às culturas, causando perdas consideráveis, que podem variar de 10 até 100%, dependendo da densidade populacional na planta infectada (SANTOS, 2012; EMBRAPA, 2013).

Os nematoides das galhas, principalmente a espécie *M. javanica* (Treub) Chitwood, se destacam pela ocorrência generalizada nas áreas agrícolas nacionais (ALMEIDA et al., 2005). Tal espécie caracteriza-se pelo alto grau de polifagia, infectando praticamente todos os tipos de plantas, incluindo soja, milho, cana-de-açúcar e plantas daninhas (RIBEIRO et al., 2002; MANZOTTE et al., 2002). Estima-se que, em áreas produtoras de soja infestadas pelo

nematoide das galhas, os prejuízos são de 10% na produção, e, em casos de condições climáticas favoráveis, somado ao uso de cultivares suscetíveis e manejo inadequado, as perdas podem chegar em até 90% (DIAS-ARIEIRA; CHIAMOLERA, 2011).

A espécie inicia seu ciclo de vida pelo ovo, o qual após o desenvolvimento embrionário, dá origem ao J1 (juvenil de primeiro estágio), que passa pela primeira ecdise no interior do ovo, originando o J2 (juvenil de segundo estágio). Com estímulos externos, especialmente condições climáticas favoráveis (água e temperatura), o J2 eclode e migra em direção ao hospedeiro. A infecção ocorre de forma direta, por força do estilete e liberação de substâncias oriundas das glândulas esofagianas. Dentro da raiz, o J2 passa por mais três ecdises, originando os estádios J3, J4 (juvenil de terceiro e quarto estágio) e fêmea adulta. A duração do ciclo varia de 21 a 42 dias, dependendo das condições ambientais e da espécie (CASTAGNONE-SERENO et al., 2013).

As fêmeas adultas produzem, em média, 400 a 500 ovos, os quais são depositados junto ao corpo da fêmea, em uma massa de ovos (matriz gelatinosa), cuja função é a proteção aos ovos, atuando ainda como mecanismo de sobrevivência às condições de estresse, como seca (FERRAZ, 2001).

Ao infectar o hospedeiro, os nematoides do gênero *Meloidogyne* estabelecem um sítio de alimentação, essencial à sua sobrevivência. O sítio de alimentação é bastante complexo e composto por cinco a oito células, caracterizadas por modificações morfológicas e fisiológicas, sendo chamadas de células gigantes (NOE, 2010). As células gigantes são multinucleadas e podem ser até 100 vezes maiores que células normais (ABAD, 2003). Nessas células, o vacúolo tem tamanho reduzido ou encontra-se ausente e, além disso, observa-se maior quantidade de organelas citoplasmáticas, ocorrendo também o espessamento e remodelação das paredes celulares para formação do sítio de alimentação (WILLIAMSON; HUSSEY, 1996).

Paralelo à formação do sítio de alimentação, ocorre o surgimento das galhas, que são resultado das modificações morfológicas (hipertrofia) e fisiológicas (hiperplasia) das células que compõem o sítio e daquelas adjacentes a elas. O sintoma visível nas raízes é o engrossamento das mesmas, apresentando tamanho e formas variáveis, dependendo da suscetibilidade do hospedeiro, nível de infestação e espécie do nematoide. As galhas tendem a se unir, causando o intumescimento de grande parte da raiz, dificultando, ou até mesmo impedindo, a absorção e translocação de água e nutrientes (MAISTRELLO et al., 2010).

Como sintoma reflexo, as plantas infectadas apresentam baixo vigor, além de pouco desenvolvimento de parte aérea, acarretando na perda de produtividade ou valor comercial do produto (FERRAZ; BROWN, 2016).

### **Reprodução e variabilidade patogênica dos nematoides das galhas**

Nematoides parasitas de plantas possuem diversas estratégias para se reproduzirem. Embora a maioria seja composta por espécies anfinimíticas, algumas possuem reprodução partenogenética, obrigatória ou facultativa. Entretanto, independente da forma de reprodução, espécies de fitonematoides apresentam expressiva variabilidade genética, resultando em distintos atributos fenotípicos em relação à adaptação aos mais diversos ambientes e ao parasitismo de plantas (SEMBLAT et al., 2001; CASTAGNONE-SERENO, 2002).

A anfimixia, ou reprodução cruzada, é a mais usual entre os nematoides e para que ocorra é necessária a presença de fêmeas e machos no ambiente. Em alguns gêneros, como *Heterodera*, *Radopholus* e *Rotylenchulus*, uma única fêmea pode ser fertilizada por vários machos, fato este que potencializa o aumento da diversidade genética dos descendentes (TIHOHOD, 1993).

A partenogênese pode ser meiótica ou mitótica, e a participação do macho não é necessária, não havendo fertilização. A reprodução meiótica pode ocorrer de forma facultativa em relação à anfimixia, sendo que os machos são conhecidos nas espécies, mas não ocorre a fertilização quando não possui espermatozoides disponíveis na espermateca (FERRAZ; BROWN, 2016). Os oócitos não são fertilizados, porém suas divisões meióticas são completadas e formam o pronúcleo do ovo e mais dois corpos polares haploides, ocorrendo a fusão do segundo corpo polar ( $n$ ) com o pronúcleo do ovo ( $n$ ), originando assim o ovo ( $2n$ ). Exemplos de espécies que compartilham esse tipo de reprodução são *Heterodera betulae* sp., *Xiphinema index* Thorne & Allen e *Meloidogyne exigua* Goeldi (TIHOHOD, 1993).

Na reprodução partenogênica mitótica, durante a oogênese não ocorre sinapse e, com isso, só acontece a divisão mitótica nos oócitos, fazendo com que o pronúcleo do óvulo conserve a condição diploide ( $2n$  cromossomos) e, assim, poderá originar um ovo sem necessidade de receber a contribuição ( $n$  cromossomos) do espermatozoide. Como também o núcleo do corpo polar do oócito retém o número diploide de cromossomos, caso haja fusão ocasional deste com o pronúcleo do óvulo, com ou sem perda cromossômica, poderão resultar

em formas poliploides (múltiplos de  $2n$ ) ou aneuploides ( $3n$  ou outro número irregular) (FERRAZ; BROWN, 2016). Esse tipo de reprodução é comum em algumas espécies dos gêneros *Meloidogyne* e *Pratylenchus*, constituindo a principal forma de reprodução em espécies consideradas altamente prejudiciais ao agronegócio brasileiro, como *M. incognita* (Kofoid & White), *M. javanica* e *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Stekhoven (MOENS et al., 2009; FERRAZ; BROWN, 2016).

Como a espécie *M. javanica* reproduz-se sem a necessidade da participação do macho, a ocorrência de machos na espécie é rara e, quando presente, é resultado de mecanismos condicionados por fatores do meio ambiente (FREITAS et al., 2006; CASTAGNONE-SERENO, 2006). É importante lembrar que, como não ocorre sinapse, também não há *crossing-over* entre os pares de cromossomos, tendo, conseqüentemente, menor possibilidade de ganho em variabilidade genética, tornando as eventuais mutações genéticas as principais alternativas geradoras de variabilidade dentro das populações (MOENS et al., 2009).

Alguns questionamentos surgem em relação às formas partenogenéticas dos nematoides das galhas. Considerando que podem haver populações ameióticas clonais, por exemplo, a primeira questão é: como tais espécies conseguiram se tornar competitivas biologicamente? Ainda, evoluíram ao ponto de tornar-se parasitas bem sucedidos de importantes plantas cultivadas, superando as limitações biológicas e ambientais, dependendo de um método de reprodução de restrita diversidade genética, sendo esta baseada apenas na ocorrência de mutações gênicas? (MATTOS, 2013).

O gênero *Meloidogyne* possui diversidade biológica e genética extremamente complexa e difícil de ser compreendida, já que pela reprodução partenogênica dá-se origem a organismos poliploides e estabiliza-se o genoma na descendência, entretanto, cada mutante que conseguir se reproduzir formará um clone diferente da população mãe (TRANTAPHYLLOU, 1985).

Ainda, este gênero apresenta altos níveis de variação intraespecífica, podendo ela ser expressa na morfologia, citogenética, preferência e capacidade reprodutiva em determinados hospedeiros, permitindo classificá-los pela agressividade ou pela virulência (ROBERTS; THOMASON, 1989).

A agressividade é a habilidade de reprodução dos nematoides em hospedeiros suscetíveis, sendo as plantas classificadas como boas ou más hospedeiras. Enquanto a virulência reflete a capacidade do patógeno em se reproduzir em hospedeiro resistente. Neste

caso, ocorre interação de genes de virulência do nematoide com genes de resistência do hospedeiro (HUSSEY; JANSSEN, 2002; ROBERTS, 2002). Desta forma, a variação intraespecífica de *Meloidogyne* spp. pode ser expressa em três níveis diferentes, quando relacionada à interação planta-nematoide: hospedabilidade, agressividade e virulência. Algumas diferenças evidenciadas no círculo de hospedeiros conduziram ao conceito das raças fisiológicas, que foram relatadas para espécies de *Meloidogyne* (HUSSEY; JANSSEN, 2002).

Triantaphyllou (1987) propôs que a alta frequência de mutação de genes menores afetaria a virulência em *Meloidogyne* spp. Em eucariontes, as proteínas de repetição que contêm um arranjo em *tandem* de elementos naturais repetidos são consideradas como uma fonte extra de variabilidade e, se ocorrerem ganhos e perdas dessas repetições, podem ser importantes fontes de evolução e diversificação dessas proteínas, permitindo a rápida adaptação a novos ambientes.

Soma-se ao exposto o fato de que alguns fatores podem influenciar tanto a fisiologia do nematoide, quanto o comportamento do hospedeiro frente ao parasitismo, incluindo fatores ambientais. A temperatura, por exemplo, influencia a distribuição geográfica do nematoide (CANTO-SAENZ, 1985), embriogênese, eclosão (CAMPOS et al., 2008), penetração, desenvolvimento, sobrevivência e mortalidade (CAMPOS et al., 2006), atuando ainda no desenvolvimento do hospedeiro, promovendo alterações morfológicas e fisiológicas e na expressão da resistência genética da planta (OLIVEIRA, 2006).

Em altas temperaturas, as plantas se tornam hospedeiros mais suscetíveis. Isto deve-se, entre outros fatores, ao fato de que alta temperatura favorece a atividade do nematoide, causa estresse às plantas, tornando-as mais vulneráveis à infecção pelo nematoide, e reduz a eficiência da planta em produzir compostos químicos responsáveis pela defesa contra infecção por patógenos (OLIVEIRA et al., 2011).

Paralelamente, a patogenicidade dos nematoides pode ser influenciada, além da temperatura, pelo estágio de desenvolvimento da planta, pela concentração do inóculo inicial e pelo genótipo do hospedeiro. A tolerância de plantas hospedeiras é afetada negativamente quando exposta a alta concentração de inóculo inicial de nematoides. No caso de plantas consideradas não-hospedeiras de *Meloidogyne* spp., a alta densidade populacional do nematoide na área aumenta a probabilidade de seleção de indivíduos patogênicos, provenientes de mecanismos geradores de variabilidade, como a mutação (TRANTAPHYLLOU, 1987).

## Controle dos nematoides das galhas na cultura da soja

O manejo de nematoides é complexo e deve ser planejado com a integração de diversos métodos, uma vez que práticas isoladas não trazem os resultados desejados. Deve-se incluir métodos como controle genético (quando disponível), químico, biológico e cultural, além de evitar a entrada do patógeno em uma área indene (RIBEIRO et al., 2010).

O controle genético envolve o uso de cultivares com níveis de resistência, sendo efetivo para limitar as perdas de produtividade na soja causada pelos nematoides (PEDROSA et al., 1994). Entretanto, a maioria dos genótipos de soja cultivados no Brasil tem apresentado histórico de suscetibilidade a *M. javanica* (ROESE et al., 2004) e outro fator limitante é a baixa disponibilidade de fontes de resistência (FERRAZ, 2006).

O controle químico é um método eficiente no controle de nematoides, podendo elevar a produtividade em até 10%. Os produtos à base de abamectina e tiodicarbe são os nematicidas mais utilizados, indicados para diversas culturas, inclusive para a soja (KUBO et al., 2012; BORTOLINI et al., 2013). O controle químico é realizado, na maioria das vezes, em forma de tratamento de sementes. Este método protege as plantas nos primeiros estágios de desenvolvimento, dificultando a penetração do nematoide, o que pode ocasionar a morte por inanição, diminuindo assim o crescimento populacional do mesmo. Além disso, o tratamento de sementes possui custos reduzidos em relação a outros tipos de aplicação de produtos químicos, pois utiliza quantidades menores de produto, por exemplo (BESSI et al., 2010).

Outro método de controle é o biológico, que tem como objetivo diminuir a densidade populacional dos nematoides com a utilização de outros organismos vivos. Estes organismos agem como inimigos naturais, por meio de predação, parasitismo, competição ou indução de resistência (ZHENG et al., 2016). As bactérias mais estudadas em relação ao controle de *Meloidogyne* spp. são as do gênero *Bacillus* e *Pasteuria*, e os fungos incluem *Trichoderma* spp., *Pochonia chlamydosporia* Zare & Gams e *Purpureocillium lilacinum* (Thom.) Luangsa-ard, Houbraken, Doorn, Hong, Borman, Hywel-Jones & Samson, os quais possuem eficiência comprovada no controle de *Meloidogyne* spp., atuando diretamente sobre os ovos, juvenis e fêmeas, além de ter, em alguns casos, a capacidade de induzir resistência na planta, ativando enzimas de defesas da mesma (WILLIAMS et al., 1989; SHARON et al., 2011; FREITAS et

al., 2012; MACHADO et al., 2012; MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013).

Já o método de controle cultural consiste na eliminação de plantas daninhas hospedeiras e na rotação/sucessão de culturas com plantas não ou más hospedeiras, resistentes ou antagonistas. É uma modalidade de controle que não apresenta riscos ambientais e não gera resíduos por produtos químicos (DIAS et al., 2010).

## **Rotação de culturas**

A rotação de culturas é uma das práticas mais importantes no manejo de nematoides. Esta prática consiste na alternância de culturas que sejam má hospedeiras, não hospedeiras, resistentes ou antagonistas ao nematoide, com o objetivo de reduzir o inóculo inicial na área.

Para que a rotação de culturas seja bem sucedida, deve-se levar em consideração a característica da espécie de planta a ser utilizada, uma vez que estas devem ser adequadas para o cultivo. É preferível que a planta possua boa estrutura e volume de sistema radicular, para melhor exploração do solo, e não apresente suscetibilidade a outros nematoides, visto que área pode estar infestada com populações mistas. Além disso, a espécie deve gerar resíduos, para servir como cobertura do solo ao final do ciclo, acumulando matéria orgânica no solo (FANCELLI, 2009). Sendo assim, o planejamento correto, levando em consideração a espécie de nematoide infestante e a cultura a ser utilizada, é de extrema importância para a adoção da rotação de culturas.

Algumas espécies têm sido indicadas para o uso em sistemas de rotação para áreas infestadas pelos nematoides das galhas, como crotalárias (*Crotalaria spectabilis* e *Crotalaria breviflora*) (MIAMOTO et al., 2016; GIRALDELI et al., 2017), feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) (Mill)), mucuna (*Mucuna deeringiana* (Bort.) Merr) (GIRALDELI et al., 2017; ROSA et al. 2013b), e algumas gramíneas (DIAS-ARIEIRA et al., 2003; INOMOTO et al., 2007), entre outras.

A espécies de *Crotalaria* destacam-se entre as principais plantas redutoras de nematoides. Em geral, atuam como plantas-armadilha, permitindo que o mesmo penetre em suas raízes, porém limitando o desenvolvimento do nematoide no interior da mesmas (SILVA et al., 1989; CURTO et al., 2015; MIAMOTO et al., 2016). Além disso, as crotalárias possuem substâncias como a monocrotalina, um alcaloide pirrolizidínico que tem ação nematicida (WANG et al., 2002; COLEGATE et al., 2012).

A espécie de crotalária mais utilizada no controle e nematoides é a *Crotalaria*



*spectabilis* Roth. Diversos trabalhos na literatura relatam sua eficiência em diminuir a densidade populacional das espécies mais importantes de nematoides para a cultura da soja, como *M. javanica*, *M. incognita*, *P. brachyurus* e *H. glycines* Ichinohe (WANG et al., 2002; INOMOTO et al., 2006; ROSA et al., 2013a; VEDOVETO et al., 2013; MIAMOTO et al., 2016). Quando esta planta é parasitada por *M. javanica*, evidencia-se a formação de células gigantes em menor número e tamanho, além da ocorrência da reação de hipersensibilidade (RH) ao redor das células nutridoras, o que resulta na menor eficiência em nutrir o nematoide (SILVA et al., 1990). Assim, os sítios de alimentação são induzidos em *C. spectabilis*, porém, a estruturação das células não ocorre de forma eficiente, fazendo com que os J2 não consigam se desenvolver para fases posteriores (SANO; NAKASONO, 1986).

Outras espécies de crotalária também são indicadas no manejo de *Meloidogyne* spp., como *C. ochroleuca* G. Don. (ROSA et al., 2013a; ROSA et al., 2015) e *C. juncea* L. (ARAYA; CASWELL-CHEN, 1994; MIAMOTO et al., 2016), com atividade sobre esse grupo de nematoides semelhante àquela observada para *C. spectabilis*. Entretanto, estudos mostram algumas variações de resultados, em que *C. juncea* permitiu a reprodução de *M. javanica* e *M. incognita* (CHARCHAR et al., 2007), bem como em que *C. ochroleuca* mostrou-se suscetível a *M. javanica* (ROSA et al., 2013b). Assim, observa-se que a reação dessas espécies frente a diferentes populações do nematoide é variável.

Além da crotalária, o milho destaca-se como cultura de rotação, por gerar palhada e compor o sistema de plantio direto (BASTOS FILHO et al., 2007). Ribeiro et al. (2002), estudando diferentes genótipos de milho, observaram que todos comportaram-se como resistentes a *M. javanica* e *M. incognita* raça 3. Contudo, Inomoto et al. (2008) observaram que o híbrido ‘BN 2’ foi resistente a *M. javanica* (FR=0,56), sendo estatisticamente igual a *C. spectabilis*, enquanto o híbrido ‘BRS 1501’ se comportou como suscetível (FR=2,77). Carneiro et al. (2007), ao analisar em diferentes híbridos de milho, constataram que os híbridos ‘90’ e ‘1449’ foram resistentes a *M. incognita* raça 1 e 3, *M. paranaensis* Carneiro, Carneiro, Abrantes, Santos & Almeida e *M. javanica*, quanto os demais híbridos estudados se comportaram de forma variável frente a raças de *M. incognita*. Sendo assim, a resposta do milho frente aos nematoides pode variar de acordo com as espécies do parasita, bem como com genótipo utilizado (SANTOS; RUANO, 1987; CARNEIRO et al., 1998).

O guando anão (*Cajanus cajan* (L.) Mill) tem mostrado potencial no controle de nematoides, porém, assim como o milho, podem haver variações de suscetibilidade em

relação às populações de nematoides, bem como à variedade utilizada. Inomoto et al. (2006a) evidenciaram este aspecto, caracterizando duas cultivares nacionais de guandu anão, uma como resistente ('Iapar 43') e outra como suscetível ('Fava Larga') aos nematoides *M. javanica* e *P. brachyurus*. Outros estudos corroboram com estes resultados, em que *C. cajan* cv. 'Iapar 43' foi eficiente na redução da população de *M. javanica*, com  $FR < 1$  (ROSA et al., 2013a; MIAMOTO et al., 2016) e a cultivar "Fava Larga" apresentou FR de até 2,47 para o mesmo nematoide (ROSA et al., 2013a). Contudo, a reação da cultivar 'Fava Larga' é diferente para outras espécies de nematoides, como para *H. glycines*, em que ocorre a penetração do nematoide nas raízes, porém os mesmos não completam o ciclo de vida, acarretando em  $FR < 1$  (VALLE et al., 1997).

Nesse mesmo contexto, Araújo Filho et al. (2010) estudaram a reação de 40 linhagens de *C. cajan* a *M. javanica*, em três experimentos. Nos experimentos 1 e 2, as linhagens g8-95 e g3-94 apresentaram  $FR = 18$  e  $12$ , respectivamente, enquanto no experimento 3, os respectivos FR foram relativamente baixos ( $FR = 1$  e  $2$  para linhagens g8-95 e g3-94, respectivamente). Sendo assim, os autores sugerem que a resistência de *C. cajan* a *M. javanica* está relacionada com a característica fenotípica e depende das condições ambientes, bem como da patogenicidade do nematoide.

O nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) também é uma cultura de cobertura indicada para áreas infestadas por fitonematoides. Esta planta é recomendada para o controle de *H. glycines* e *R. reniformis* (INOMOTO; ASMUS, 2009), visto que é considerada não hospedeira dos mesmos. Já para *P. brachyurus*, o nabo forrageiro é considerado como má hospedeira e, para *M. javanica* e *M. incognita*, é considerado planta suscetível. Corroboram este trabalho a observação de  $FR > 1$  de *M. javanica* para o nabo forrageiro em dois ensaios em épocas distintas ( $FR = 2,14$  para o experimento 1 e  $FR = 2,44$  para o experimento 2) (ROSA et al., 2013b). Contudo, assim como abordado para outras plantas, a literatura traz resultados variáveis em relação à suscetibilidade frente a diferentes gêneros, espécies e raças de nematoides. Neste contexto, para *M. javanica* e *M. incognita*, a literatura também relata baixa suscetibilidade nessa cultura, em que a reprodução dessas duas espécies em nabo forrageiro foi ineficiente, com  $FR = 0,02$  e  $0,01$ , respectivamente (CARNEIRO et al., 1998). Tavares-Silva et al. (2017) também obtiveram resultados satisfatórios em relação ao controle de nematoides pelo cultivo de nabo forrageiro, utilizado em sucessão com a soja. Os autores observaram redução de 42,6% e 46,9% na população final de *M. javanica* e *P. brachyurus*,

respectivamente.

Diversas plantas são estudadas em relação à suscetibilidade aos nematoides, com o objetivo de expandir as opções dentro da rotação de culturas. Uma planta que recentemente está sendo estudada nesse sentido é o trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum* Moench), relatada como planta armadilha para *Heterodera schachtii* na Europa (GARDNER; CASWELL-CHEN, 1994). Em recente estudo, a mesma planta foi também relatada como resistente ao parasitismo por *M. javanica*, com FR=0,7 (MELO et al., 2018).

## REFERÊNCIAS

- ABAD, P.; FAVERY, B., M. N.; CASTAGNONE- SERENO, P. Root- Knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 4, n. 4, p. 217-224, 2003.
- ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. F. V.; HENNING, A. A.; GODOY, C. V.; COSTAMILAN, L. M.; MEYER, M. C. Doenças da Soja. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.) **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 569-588.
- ANSELMO, J. L.; COSTA, D. S.; SÁ, M. E. Plantas de cobertura para Região de Cerrado. **Plantas de cobertura**, n. 25, p.149-154, 2014.
- ARAÚJO FILHO, J. V.; INOMOTO, M. M.; GODOY, R.; FERRAZ, L. C. C. B. Resistência de Linhagens de Feijão-guandu a *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 34, n. 2, p. 75-81, 2010.
- ARAÚJO, F. F.; BRAGANTE, R. J.; BRAGANTE, C. E. Controle genético, químico e biológico de meloidoginose na cultura da soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 2, n. 2, p. 220-224, 2012.
- ARAYA, M.; CASWELL-CHEN, E. P. Penetration of *Crotalaria juncea*, *Sesamum indicum*, and *Dolichos lablab* roots by *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, Auburn, v. 26, n. 1, p. 238–240, 1994.
- BASTOS FILHO, G.; NAKAZONE, D.; BRUGGEMANN, G.; MELO, H. **Rally da safra 2007: uma avaliação do plantio direto no Brasil**. Disponível em: <[http://www.plantiodireto.com.br/?body=cont\\_int&id=823](http://www.plantiodireto.com.br/?body=cont_int&id=823)>. Acesso em: 28 de fev. 2019.
- BESSI, R.; SUJIMOTO, F. R.; INOMOTO, M. M. Seed treatment affects *Meloidogyne incognita* penetration, colonization and reproduction on cotton. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 6, p. 1428-1430, 2010.
- BORTOLINI, G. L.; ARAUJO, D. V.; ZAVISLAK, F. D.; JUNIOR, J. R.; KRAUSE, W. Controle de *Pratylenchus brachyurus* via tratamento de sementes de soja. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 818-830, 2013.

CAMPOS, H. D., CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A. Efeito do tempo e da temperatura de incubação de juvenis do segundo estágio (J2) no teor de lipídio corporal e no parasitismo de *Meloidogyne javanica* em soja. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, p.387- 393, 2006.

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

CANTO-SÁENZ, M. The nature of resistance to *Meloidogyne incognita*. In: SASSER, J.N.; CARTER, C. (Ed.) **An advanced treatise on Meloidogyne**. v.1. Raleigh: USAID & NCSU, 1985. p.225-231.

CARNEIRO, R. G.; MORITZ, M. P.; MÔNACO, A. P. A.; NAKAMURA, K. C.; SCHERER, A. Reação de Milho, Sorgo e Milheto a *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 31, n. 2, p. 9-13, 2007.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CARVALHO, F. L. C.; KULCZYNSKI, S. M. Seleção de plantas para o controle de *Mesocriconema xenoplax* e *Meloidogyne* spp. através de rotação de culturas. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 22, n. 2, p. 41-48, 1998.

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

CASTAGNONE-SERENO, P. Genetic variability and adaptive evolution in parthenogenetic root-knot nematodes. **Heredity**, v.96, p.282–289, 2006.

CASTAGNONE-SERENO, P. MULET, K.; DANCHIN, E. G. J.; KOUTSOVOULOS, G. D.; KARALIC, M.; ROCHA, R.; BAILLY-BECHET, M.; PRATX, L.; PERFUS-BARBEOCH, L.; ABAD, P. Gene copy number variations as signatures of adaptive evolution in the parthenogenetic, plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. **Molecular Ecology**, v.28, p. 1-14, 2019.

CASTAGNONE-SERENO, P.; DANCHIN, E. G. J.; PERFUS-BARBEOCH, L.; ABAD, P. Diversity and evolution of root-knot nematodes, genus *Meloidogyne*: new insights from the genomic era. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 51, n. 1, p. 203-220, 2013.

CHARCHAR, J. M.; GONZAGA, V.; VIEIRA, J. V.; OLIVEIRA, V. R.; MOITA, A. W.; ARAGÃO, F. A. S. Efeito de rotação de culturas no controle de *Meloidogyne* spp. em cenoura na região norte do Estado de Minas Gerais. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 31, n. 1, p. 173-179, 2007.

COLEGATE, S. M.; GARDNER, D. R.; JOY, R. J.; BETZ, J. M.; PANTER, K. E. Dehydropyrrolizidine alkaloids, including monoesters with an unusual esterifying acid, from cultivated *Crotalaria juncea* (sunn hemp cv. 'Tropic Sun'). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Munique, v.60, n. 14, p. 3541-3550, 2012.

CURTO, G.; DALLAVALLE, E.; SANTI, R.; CASADEI, N.; D'AVINO, L.; LAZZERI, L. The potential of *Crotalaria juncea* L. as a summer green manure crop in comparison to Brassicaceae catch crops for management of *Meloidogyne incognita* in the Mediterranean area. **European Journal of Plant Pathology**, Missouri, v. 142, n. 4, p. 829-841, 2015.

DIAS, W. P.; GARCIA, A.; SILVA, J. F. V.; CARNEIRO, G. E. S. **Nematoides em soja: Identificação e Controle**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 8p. (Circular Técnica 76).

DIAS-ARIEIRA C. R.; CHIAMOLERA, F. M. Cresce a incidência de nematoides em milho e soja. **Revista Campo e Negócio**, Uberlândia, p.18-20, 2011.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; MIZOBUSTI, E. H. Avaliação de gramíneas forrageiras para o controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* (Nematoda). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.25, n.2, p.473-477, 2003.

EDHAN, O.; HELLMAN, Z.; SHERILL-ROFE, D. Sex with no regrets: How sexual reproduction uses a no regret learning algorithm for evolutionary advantage. **Journal of Theoretical Biology**, v. 426, p. 67–8, 2017.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil 2014**. - Londrina: Embrapa Soja. 268 p. 2013.

FANCELLI, A. L. Pesquisas certificam espécies para rotação de culturas. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 0, n. 9, p. 17-20, 2009.

FERRAZ, L. C. C. B. As meloidogynoses da soja: passado, presente e futuro. In: SILVA, J. F. V. (Ed.). **Relações parasito-hospedeiro nas meloidogynoses da soja**. Londrina: EMBRAPA Soja, 2001. p. 15-38.

FERRAZ, L. C. C. B. O nematóide *Pratylenchus brachyurus* e a soja sob plantio direto. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, v. 1, n. 96, p. 23-32, 2006.

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

FREITAS, L.G.; OLIVEIRA, R.D.L.; FERRAZ, S. **Introdução à Nematologia**. 3ª edição. Ed. UFV. Viçosa-MG. 2006. 84p.

FREITAS, M. A.; PEDROSA, E. M. R.; MARIANO, R. L. R.; MARANHÃO, S. R. V. L. Screening *Trichoderma* spp. as potential agents for biocontrol of *Meloidogyne incognita* in sugarcane. **Nematropica**, Florida, v. 42, n. 1, p. 115-122, 2012.

GARDNER, J.; CASWELL-CHEN, E. P. *Raphanus sativus*, *Sinapis alba* and *Fagopyrum esculentum* as hosts to *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica* and *Plasmodiophora brassicae*. **Supplement to Journal of Nematology**, 26 (4S): 756-760, 1994.

GIRALDELI, A. L.; SAN GREGORIO, J. P. R.; MONQUERO, P. A.; AGUILLERA, M. M.; RIBEIRO, N. M. Weeds hosts of nematodes in sugarcane culture. **Planta Daninha**, v. 35, p. 1-5, 2017.

HUSSEY, R.S.; JANSSEN, G.J.W. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species. In: STARR, J.L.; COOK R.; BRIDGE, J. **Plant Resistance to Parasitic Nematodes**. CAB International, Wallingford. 2002, pp. 43-70

INOMOTO, M. M.; ANTEDOMÊNICO, S. R.; SANTOS, V. P.; SILVA, R. A.; ALMEIDA, G. C. Greenhouse evaluation of the potential of sorghum, pearl millet and crotalaria in the

management of *Meloidogyne javanica*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 2, p. 125-129, 2008.

INOMOTO, M. M.; ASMUS, G. L. Culturas de cobertura e de rotação devem ser plantas não hospedeiras de nematóides. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 6, n. 9, p. 112-116, 2009.

INOMOTO, M. M.; MOTTA, L. C. C.; BELUTI, B.; MACHADO, A. C. Z. Reação de seis adubos verdes a *Meloidogyne javanica* e *Pratylenchus brachyurus*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 30, n. 1, p. 39-44, 2006.

INOMOTO, M. M.; MACHADO, A. C. Z.; ANTEDOMENCIO, S. R. Reação de *Brachiaria* spp. e *Panicum maximum* a *Pratylenchus brachyurus*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 341-344, 2007.

KUBO, R. K.; MACHADO, A. C. Z.; OLIVEIRA, C. M. G. Efeito do tratamento de sementes no controle de *Rotylenchulus reniformis* em dois cultivares de algodão. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v. 59, n. 1-2, p. 239-245, 2012.

LOMBARDO, J. A.; ELKINTON, J. S. Environmental adaptation in asexual invasive insect. **Ecology and Evolution**, v.7, p. 5123-5130, 2017.

MACHADO, A. C. Z.; SILVA, S. A.; DORIGO, O. F.; RIEDE, C. R.; GARBUGLIO, D. D. Phenotypic variability and response of Brazilian oat genotypes to different species of root-knot and root-lesion nematodes. **European Journal of Plant Pathology**, v. 141, n. 1, p. 111-117, 2015.

MACHADO, V.; BERLITZ, D. L.; MATSUMURA, A. T. S.; SANTIN, R. D. C. M.; GUIMARÃES, A.; SILVA, M. E. D.; FIUZA, L. M. Bactérias como agentes de controle biológico de fitonematóides. **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 2, p. 165-182, 2012.

MAISTRELLO, L.; VACCARI, G.; SASANELLI, N. Effect of chestnut tannins on the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Helminthologia**, Eslováquia, v. 47, n. 1, p. 48-57, 2010.

MANZANILLA-LÓPEZ R. H.; ESTEVES, I.; FINETTI-SIALER, M. M.; HIRSCH, P. R.; WARD, E.; DEVONSHIRE, J.; HIDALGO-DÍAZ, L. *Pochonia chlamydosporia*: advances and challenges to improve its performance as a biological control agent of sedentary endoparasitic nematodes. **Journal of Nematology**, Florida, v. 45, n. 1, p.1-7, 2013.

MANZOTTE, U.; DIAS, W. P., MENDES, M. L.; SILVA, J. F. V.; GOMES, J. Reação de híbridos de milho a *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 26 n.1, p. 105-108, 2002.

MATTOS, V. S. **Variabilidade genética e agressividade a soja [*Glycine max* (L.) Merrill] de populações de *Meloidogyne* spp. do Cerrado e de áreas de cultivo**. 2013. 81 f., il. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) —Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

MELO, A. S.; SILVA, E. J.; TARINI, G.; PONTALTI, P. R. B.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Reação de trigo mourisco a *Meloidogyne javanica*. In: Congresso Brasileiro de Nematologia,

35, Bento Gonçalves, 2018. **Anais do XXXV Congresso Brasileiro de Nematologia** Bento Gonçalves: SBN, 2018.

MIAMOTO, A.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; CARDOSO, M. R.; PUERARI, H. H. Penetration and Reproduction of *Meloidogyne javanica* on Leguminous Crops. **Journal of Phytopathology**, Medford, v. 164, n. 11-12, p. 890-895, 2016.

MOENS, M.; PERRY, R.; STARR, J. *Meloidogyne* species- a diverse group of novel and important plant parasites. In: Perry, R. N.; Moens, M.; Starr, J. L. (eds). **Root-knot nematodes**, 1. Wallingford, UK, 2009. Pp. 483.

NOE, J. P. Nematoides parasitas de plantas. In: TRIGIANO, R. N.; WINDHAM, M. T.; WINDHAM, A. S. **Fitopatologia: conceitos e exercícios de laboratório**. Porto Alegre, RS, Brasil: Artmed, 2010, p. 83-96.

OLIVEIRA, D. S.; RD'AL, O.; SILVA, D. G.; SILVA, R.V. Characterization of *Meloidogyne incognita* populations from São Paulo and Minas Gerais state and their pathogenicity on coffee plants. **Tropical Plant Pathology**, v.36, p.190–194, 2011.

OLIVEIRA, D. S. **Patogenicidade de populações de *Meloidogyne incognita*, provenientes de Minas Gerais e São Paulo, ao cafeeiro**. 2006. 75 f., il. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

PEDROSA, E. M. R.; HUSSEY, R. S.; BOERMA, H. R. Response of resistant soybean plant introductions to *Meloidogyne arenaria* races 1 and 2. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 26, n. 1, p. 182-187, 1994.

PINHEIRO, J. B.; BOITEUX, L. S.; PEREIRA, R. B.; ALMEIDA, M. R. A.; CARNEIRO, R. M. D. G. **Identificação de espécies de *Meloidogyne* em tomateiro no Brasil**. Embrapa Hortaliças. Brasília –DF, (Boletim Pesquisa e Desenvolvimento, 102). 2014.

PINHEIRO, J. B.; CARVALHO, A. D. F.; VIEIRA, J. V. 2010. **Manejo do Nematóide de galhas (*Meloidogyne* spp.) em cultivos de cenoura na região de Irecê- BA**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 7 p., 2010.

RIBEIRO, N. R. DIAS, W. P.; HOMECHIN, M.; SILVA, J. F. V.; FRANCISCO, A. **Avaliação da reação de espécies vegetais ao nematóide das lesões radiculares**. Londrina: Embrapa Soja, 5 p., 2007.

RIBEIRO, N. R.; DIAS, W. P.; SANTOS, J. M. **Distribuição de fitonematóides em regiões produtoras de soja do estado de Mato Grosso**. Boletim de Pesquisa de Soja 2010, Fundação Mato Grosso, p. 289-296, 2010.

RIBEIRO, N. R.; SILVA, J. F. V.; MEIRELLES, W. F.; CRAVEIRO, A. G.; PARENTONI, S. N.; SANTOS, F. G. Avaliação da resistência de genótipos de milho, sorgo e milheto a *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* raça 3. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 3, p. 102-103, 2002.

ROBERTS, P. A.; THOMASON, I. J. A review of variability in four *Meloidogyne* spp. measured by reproduction on several hosts including *Lycopersicon*. **Agricultural Zoology Reviews**, v.3, p.225–252, 1989.

- ROBERTS, P.A. Concepts and Consequences of Resistance. In: Starr, J.L.; Cook, R.; Bridge, J. (eds) **Plant Resistance to Parasitic Nematodes**. CAB International, Wallingford, 2002. pp. 25-41.
- ROBIN, C. ANDANSON, A.; SAINT-JEAN, G.; FABREGUETTES, O.; DUTECH, C. What was old is new again: Thermal adaptation within clonal lineages during range expansion in a fungal pathogen. **Molecular Ecology**, v. 26, p. 1952-1963, 2017.
- RODRIGUES, C. S.; PINHEIRO, J. B.; MOITA, A. W.; SUINAGA, F. A.; PEREIRA, R. B. Avaliação preliminar de cultivares de hortaliças folhosas para reação a *Meloidogyne javanica*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, S0545 - S0552, 2014.
- ROESE, A. D.; OLIVEIRA, L.; LANES, F. F. Reação de cultivares de soja (*Glycine max* L. Merrill) a *Meloidogyne paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 28, n. 1, p. 131-135, 2004.
- ROSA, J. M. O.; WESTERICH, J. N.; WILCKEN, S. R. S. *Meloidogyne javanica* reproduction on vegetable crops and plants used as green manure verde. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, n. 2, p. 133-141, 2013a.
- ROSA, J. M. O.; WESTERICH, J. N.; WILCKEN, S. R. S. Reprodução de *Meloidogyne javanica* em olerícolas e em plantas utilizadas na adubação verde. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, n. 2, p. 133-141, 2013b.
- ROSA, J. M. O.; WESTETICH, J. N.; WILCKEN, S. R. S. Reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em olerícolas e plantas utilizadas na adubação verde. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 46, n. 4, p. 826-835, 2015.
- SANO, Z.; NAKASONO, K. Histological responses of three leguminous enemy plants to the penetration and development of *Meloidogyne incognita*. **Japanese Journal of Nematology**, Tokyo, v.16, n.12, p.48-55, 1986.
- SANTOS, M. A.; RUANO, O. Reação de plantas usadas como adubos verdes a *M. incognita* raça 3 e a *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 11, n. 1, p. 184-197, 1987.
- SANTOS, T. F. S. **Metodologia de avaliação a *Pratylenchus brachyurus* e reação de genótipos de soja aos nematoides das galhas e das lesões**. 2012. 85f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Mato Grosso, Rondonópolis, 2012.
- SEMBLAT, J. P.; ROSSO, M. N.; HUSSEY, R. S.; ABAD, P.; CASTAGNONE-SERENO, P. Molecular cloning of a cDNA encoding an amphid-secreted putative avirulence protein from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v.14, p.72-79, 2001.
- SHARON, E.; CHET, I.; SPIEGEL, Y. Biological control of plant-parasitic nematodes: *Trichoderma* as a biological control agent. **Biological Control**, Palo Alto, v. 11, n. 1, p. 183-201, 2011.
- SILVA, G. S. Métodos alternativos de controle de fitonematoides. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, p. CXI, 2010.



- SILVA, G. S.; FERRAZ, S.; SANTOS, J. M. Atração, penetração e desenvolvimento de larvas de *Meloidogyne javanica* em raízes de *Crotalaria* spp. **Nematologia Brasileira**, v. 13, n. 1, p. 151-163, 1989.
- SILVA, G. S.; FERRAZ, S.; SANTOS, J. M. Histopatologia de raízes de *Crotalaria* parasitadas por *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 15, n.1, p. 46-48, 1990.
- TAVARES-SILVA, C. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; PUERARI, H. H.; SILVA, E. F.; IZIDORO JUNIOR, A. Sucessão crame-soja no manejo de *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne javanica*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 43, n. 4, p. 316-320, 2017.
- TIHOHOD, D. Biologia de fitonematoides: aspectos básicos. In: Tihohod, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal, FUNEP, 149-152 p. 1993.
- TRIANANTAPHYLLOU, A.C. Cytogenetics, cititaxonomy and phylogeny of root-knot nematodes. In: Carter, C. C.; Sasser, J. N. (eds.). **An advanced treatise on Meloidogyne**, vol. I, Biology and control. Raleigh, North Carolina State University Graphics, 1985. p. 113 – 126.
- TRIANANTAPHYLLOU, A.C. Genetics of nematode parasitism on plants. In: Veech, J.A.; Dickson d. (eds). **Vistas on Nematology. Society of Nematologists**, Hyattsville (MD) EUA, 1987. p. 354-363.
- VALLE, L. A. C.; FERRAZ, S.; TEIXEIRA, D. A. Estímulo à eclosão de juvenis, penetração e desenvolvimento de *Heterodera glycines* em raízes de mucuna preta (*Mucuna aterrima*) e feijão guandu (*Cajanus cajan*). **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 21, n. 1, p. 67-83, 1997.
- VEDOVETO, M. V. V.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; RODRIGUES, D. B.; ARIEIRA, J. O.; ROLDI, M.; SEVERINO, J. J. Adubos verdes no manejo de *Pratylenchus brachyurus* em soja. **Nematropica**, Auburn, v. 43, n. 2, p. 226-232, 2013.
- WANG, K. H.; SIPES, B. S.; SCHMITT, D. P. *Crotalaria* as a cover crop for nematode management. **Nematropica**, Auburn, v. 32, n. 1, p. 35–57, 2002.
- WILLIAMS, A. B.; STIRLING, G. R.; HAYWARD, A. C.; PERRY, J. Properties and attempted culture of *Pasteuria penetrans*, a bacterial parasite of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*). **Journal of Applied Bacteriology**, Medford, v. 67, n. 2, p. 145-156, 1989.
- WILLIAMSON, V. M.; HUSSEY, R. S. Nematode pathogenesis and resistance in plants. **The Plant Cell**, v. 8 p. 1735-1745, 1996.
- ZHENG, Z.; ZHENG, J.; ZHANG, Z.; PENG, D.; SUN, M. Nematicidal spore-forming Bacilli share similar virulence factors and mechanisms. **Scientific Reports**, Shanghai, v. 6, n. 1, p. 1-9, 2016.

## **CAPÍTULO 1**

**Susceptibility of *Crotalaria* species to diferente populations of *Meloidogyne javanica***

Apresentado nas normas da revista Canadian Journal of Plant Pathology

**Susceptibility of *Crotalaria* species to different populations of *Meloidogyne javanica***

**LANA PAOLA DA SILVA CHIDICHIMA<sup>1</sup>, ANA PAULA MENDES LOPES<sup>1</sup>,  
ANGÉLICA MIAMOTO<sup>1</sup>, MAYRA RENATA CRUZ SOARES<sup>1</sup>, ROSÂNGELA  
APARECIDA DA SILVA<sup>2</sup> AND CLAUDIA REGINA DIAS-ARIEIRA<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brazil*

<sup>2</sup>*Fundação Mato Grosso, Rondonópolis, MT, Brazil*

<sup>3</sup>*Departamento de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brazil*

**Acknowledgements**

This work was supported by the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and the Brazilian Federal Agency for Support and Evaluation of Graduate Education (CAPES).

---

<sup>1</sup> Correspondence to: Lana P. S. Chidichima. E-mail: lana\_pchidichima@hotmail.com

**Abstract:** *Crotalaria* is one of the most widely used plants for control of phytopathogenic nematodes. Plants act by inhibiting nematode multiplication, fixing atmospheric nitrogen, and improving soil quality. The pathogenicity of nematode populations can vary according to plant species. This study aimed to evaluate the response of three *Crotalaria* species to seven populations of *Meloidogyne javanica*. *Crotalaria spectabilis*, *C. ochroleuca*, *C. juncea*, and soybean (control) were inoculated with the nematode. Fresh root weight, root-knot index, nematode population density (number of nematodes per gram of fresh root) and reproductive factor (RF) were evaluated 60 days after inoculation. *Meloidogyne javanica* populations varied in pathogenicity to all plants studied. Soybean was susceptible to all populations, and *C. spectabilis* and *C. ochroleuca* were resistant. *Crotalaria juncea* was susceptible to Mj-7 (RF = 1.04). Mj-7 was the most pathogenic population.

**Keywords:** antagonistic plants, pathogenic variability, root-knot nematodes

## **Introduction**

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are responsible for major losses in soybean (Kakuri et al. 2017). Monoculture is one of the factors that contribute to nematode population increase and reduce agricultural productivity (Silva et al. 2016). The parasitism of *Meloidogyne* spp. is complex. The nematodes infect plant roots, from where they extract nutrients for their development and reproduction, and inject substances that cause damage to the roots, leading to cell hypertrophy and hyperplasia and formation of galls. These alterations obstruct the flow of nutrients and water to the plant, reducing plant growth and development and increasing susceptibility to other plant pathogens (Ferraz and Brown 2016).

Management of root-knot nematodes involves integrated control strategies, such as the use of resistant cultivars and chemical and biological nematicides (Juhász et al. 2013). Crop rotation is another important strategy. Some plant species used in crop rotation are able to inhibit nematode multiplication while enhancing soil quality by increasing nitrogen fixation and nutrient availability (Hagemann et al. 2010; Gardiano et al. 2012; Mateus et al. 2014).

*Crotalaria* spp. are the most widely used plants for nematode control, particularly *Crotalaria spectabilis* Roth, *Crotalaria ochroleuca* G. Don, and *Crotalaria juncea* L. They effectively reduce *Meloidogyne* spp. reproduction (Santana et al. 2014; Rosa et al. 2013; Miamoto et al. 2016). However, the efficiency of *Crotalaria* spp. may vary depending on nematode population. Conflicting results were reported for *C. juncea* against *M. javanica* (Treub) Chitwood and *M. incognita* (Kofoid and White) Chitwood; the plant was reported to be resistant in some studies (Rosa et al. 2013; Miamoto et al. 2016) but susceptible in others (Moraes et al. 2006; Inomoto et al. 2008). Similarly, *C. ochroleuca* has been reported as resistant (Silva et al. 2018) and susceptible (Rosa et al. 2013; Moraes et al. 2006) to *M. javanica*.

Genetic characteristics of the host, environmental conditions, and pathogenic variability among nematode populations can be responsible for differences in the susceptibility of *Crotalaria* species. For instance, climatic conditions and mutagenic events can generate more aggressive and virulent individuals able to adapt to new hosts and environments (Triantaphyllou 1987; Oliveira et al. 2011).

We hypothesize that the aggressiveness of *M. javanica* populations from different regions of Brazil varies between *Crotalaria* species, which could represent a risk to susceptible crops in rotation with *Crotalaria*. The aim of this study was to evaluate the response of different *Crotalaria* species to seven populations of *M. javanica*.

## **Material and methods**

### *Collection of nematode populations*

Soil and symptomatic roots samples were collected between March and May 2017 and analyzed in the Laboratory of Nematology of the State University of Maringá, Brazil (23°24'17.39"S 51°56'27.00"W). Seven soil and root samples collected at different locations (Table 1.1) were maintained on tomato (*Lycopersicon esculentum* L. cv. Santa Clara) and okra [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench cv. Santa Cruz] plants in pots containing 3 L of infected soil under greenhouse conditions. Plants were irrigated as necessary to provide favourable conditions for nematode multiplication. The inoculum was maintained for 60 days, after which samples were subjected to isoenzymatic analysis and purification.

### *Isoenzymatic characterization and purification of populations*

Isoenzymatic characterization of *Meloidogyne* spp. was carried out for each sample, and inocula were purified by removing the egg mass. Twenty adult milky-white coloured females were removed from each root sample using fine-point forceps and a stereoscope microscope. The females were transferred to capillary tubes containing extraction buffer (Carneiro and Almeida 2001), macerated with a needle, mixed with bromophenol blue, and loaded onto a polyacrylamide gel. A sample of *M. javanica* was used as standard for phenotypic comparison. Vertical gel electrophoresis was carried out using a Bio-Rad PowerPac™ Basic (Singapore, Singapore) apparatus under refrigeration. Electrophoresis was initially carried out at 100 V until bromophenol blue reached the separating gel and then at 200 V. The gel was

transferred to a glass flask containing a staining solution (50 mL of phosphate buffer, 50 mg of Fast Blue RR salt, and 1.5 mL of 1%  $\alpha$ -naphthylacetate) for esterase detection. The gel was incubated in the dark at 37 °C for 30 min until dark bands were revealed and then transferred to a fixative solution (50 mL of acetic acid, 50 mL of distilled water, and 10 mL of methyl alcohol solution) for 30 min. Finally, the gel was placed on wet cellophane paper and dried on acrylic frames. The relative mobility of the isoforms was measured in relation to the first band of *M. javanica*. The boundary between stacking and separating gels was used as a reference.

One egg mass of each *M. javanica* female, individually, was inoculated on a tomato plant. Tomatoes were transplanted to pots containing 2 L of autoclaved soil (120 °C for 2 h) and kept under greenhouse conditions for five months for nematode multiplication.

#### *Susceptibility of Crotalaria to M. javanica populations*

Experiments were conducted in a greenhouse, under coordinates 23°24'17.39"S and 51°56'27.00"W, in two periods, from September to November 2018 (Experiment 1) and from December 2018 to February 2019 (Experiment 2). A completely randomized 4 × 7 factorial design with six replicates was used.

*Crotalaria ochroleuca*, *C. juncea*, *C. spectabilis*, and soybean cv. M6210 IPRO (control) seeds were sown in plastic trays containing commercial substrate (Mecplan®, Telêmaco Borba, Brazil). After 15 days, seedlings were transplanted to Styrofoam pots containing 500 mL of substrate composed of clayey soil and sand at a 1:1 (v/v) ratio. Plants were inoculated with 1000 eggs and eventual second-stage (J2) juveniles of *M. javanica* at the time of transplant. Seven nematode populations were used. The inoculum of each population was extracted following the method proposed by Hussey and Barker (1973) and modified by

Boneti and Ferraz (1981). Counting was performed using a Peters chamber under a light microscope.

Plants were grown for 60 days under greenhouse conditions and irrigated daily. After this period, plants were removed, and the roots were carefully washed, dried on a paper towel to remove excess water, and weighed on a semi-analytical balance for determination of fresh root weight. The gall index (GI) was determined according to the method of Taylor and Sasser (1978). Nematode number and population density (number of nematodes per gram of fresh root) were determined for each root sample. The reproduction factor (RF) was calculated using the equation  $RF = \text{final population}/\text{initial population}$  (Oostenbrink 1966). Plants with  $RF = 0$  were considered immune;  $RF < 1$ , resistant; and  $RF \geq 1$ , susceptible.

Data were subjected to analysis of variance followed by the Scott–Knott test for comparisons between nematode populations and Tukey’s test for comparisons between plant species. Statistical significance was set at  $p < 0.05$ . Data were transformed to  $(x + 1)^{1/2}$  to achieve normal distributions. Statistical analyses were performed using the Sisvar statistical software (Ferreira 2011).

## Results

*Meloidogyne javanica* populations varied greatly in their aggressiveness on different plant species. Interaction effects between plant species and nematode populations were found for all parameters. Nematode reproduction was greater on soybean than on *Crotalaria* species. Mj-7 had higher GI than other nematode populations on *C. ochroleuca* (0.83 in Experiment 1 and 0.33 in Experiment 2) (Table 1.2). For *C. juncea*, the highest GIs were observed for Mj-5 in Experiment 1 (GI = 2) and Mj-3 in Experiment 2 (GI = 0.50). *C. spectabilis* showed lower GI



than other plants, with a GI different from zero only for Mj-3 in Experiment 1. For soybean, the highest GIs were observed for Mj-5 (4.50), Mj-7 (4.00), Mj-6 (3.67), Mj-3 (2.83), and Mj-1 (2.83) in Experiment 1 and for Mj-7 (4.33), Mj-4 (3.67), Mj-3 (4.33), and Mj-5 (3.17) in Experiment 2. In both experiments, Mj-1, Mj-2, Mj-3, Mj-4, and Mj-6 did not differ in GI between *Crotalaria* species but had significantly greater values on soybean. In Experiment 1, the GI of the Mj-5 population on *C. juncea* was greater than on other *Crotalaria* species but lower than on soybean. Mj-7 had the highest GI on soybean, followed by *C. ochroleuca* and other *Crotalaria* species.

Soybean had the highest nematode population density in both experiments; Mj-5 and Mj-7 were found at higher concentrations than other populations in Experiment 1 and Mj-1 in Experiment 2 (Table 1.3). There was no significant difference in nematode population density between *Crotalaria* species. On *C. ochroleuca* and *C. juncea*, Mj-7 had higher population density in Experiment 1 and Mj-2 in Experiment 2. On *C. spectabilis*, the Mj-6 population was present at higher densities in both experiments.

Mj-1, Mj-2, Mj-4, Mj-5, and Mj-6 showed no differences in RF between *Crotalaria* species in both experiments. However, the RF of these nematode populations was significantly higher on soybean than on *Crotalaria* plants (Table 1.4). In Experiment 1, the RF of Mj-3 on *C. ochroleuca* was higher than on *C. juncea* but did not differ from that on *C. spectabilis*. On *C. ochroleuca*, the highest RF was observed for Mj-3 (0.34) in Experiment 1 and for Mj-7 (0.50) in Experiment 2. On *C. juncea*, Mj-7 showed higher RF than other populations in both experiments (0.72 and 1.04 in Experiments 1 and 2, respectively). On *C. spectabilis*, the highest RF was found for Mj-6 (0.26) in Experiment 1 and Mj-4 (0.28) in Experiment 2. Soybean had higher RF for Mj-5 (22.25) and Mj-7 (19.09) in Experiment 1 and Mj-7 (62.03) in Experiment 2.

## Discussion

*Meloidogyne javanica* populations differed in reproductive parameters between *Crotalaria* species. *Crotalaria juncea* was the only species of *Crotalaria* susceptible to Mj-7 in Experiment 2 (RF of 1.04). In general, *C. juncea* showed greater susceptibility to *M. javanica* populations than other *Crotalaria* species. In a previous study, Charchar et al. (2007) found that *C. juncea* allowed the reproduction not only of *M. javanica* but also of *M. incognita*. Studies have also pointed this species as being susceptible to the root-lesion nematode *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev and Schuurmans Stekhoven (Machado et al. 2007; Santana-Gomes et al. 2014). In contrast to *C. juncea*, *C. spectabilis* and *C. ochroleuca* were resistant (RF < 1) to all nematode populations in both experiments.

The positive results obtained with *C. spectabilis* in the control of root-knot nematodes are widely reported (Costa et al. 2014; Braz et al. 2016; Miamoto et al. 2016; Giraldeli et al. 2017; Silva et al. 2018). This plant antagonizes *Meloidogyne* via diverse mechanisms: it causes the nematode to form abnormally small nourishing cells, leads to nutritional deficiency, delays growth, and prevents the production of adult females (Chitwood 2002; Silva et al. 1990). Because it attracts and allows the penetration of juveniles but prevents their development and reproduction, *C. spectabilis* has potential as a trap crop (Chen et al. 2008; Curto et al. 2015).

*Crotalaria ochroleuca* is an efficient antagonist of *Meloidogyne* spp. (Silva et al. 2018), *P. brachyurus* (Ribeiro et al. 2007), and *Rotylenchulus reniformis* Linford and Oliveira (Claudius-Cole et al. 2015). However, controversial results have been reported on its

susceptibility to *P. brachyurus* (Machado et al. 2007), *M. javanica* (Rosa et al. 2013), and different races of *Heterodera glycines* Ichinohe (Cardoso et al. 2019).

The antagonistic effects of *Crotalaria* species on nematodes have been attributed to the production of the pyrrolizidine alkaloid monocrotaline (Colegate et al. 2012). However, some studies concluded that, although this alkaloid reduces nematode mobility, it does not appear to be directly related to the antagonistic effects of *Crotalaria*, as several other plant species that produce monocrotaline are susceptible to nematodes (Fassutiotis and Sugar 1969; Oka 2010; Colegate et al. 2012).

In this study, there was wide variability in the pathogenicity of *M. javanica* populations. Some *Crotalaria* species differed in GI, population density, and RF, but marked differences were found when comparing *Crotalaria* species with soybean. The RF on soybean ranged from 3.67 to 22.25 (for Mj-1 and Mj-5, respectively) in Experiment 1 and from 16.78 to 62.03 (for Mj-6 and Mj-7, respectively) in Experiment 2. In general, Mj-5 and Mj-7 were the most virulent populations to soybean, and Mj-1 and Mj-6 were the least.

Previous studies have observed variability in the virulence of *Meloidogyne* populations (Roese et al. 2007; Oliveira et al. 2011), which can be due to several factors. According to Wofford et al. (1989) and Davis et al. (1996), the origin of the nematode population is an important factor for virulence, as plant susceptibility may vary between nematode isolates from different locations. Two populations of *M. paranaensis* Carneiro, Carneiro, Abrantes, Santos and Almeida from different regions were found to differ in their aggressiveness to several hosts (Roese et al. 2007). There is evidence of a positive correlation between geographic and genetic distances of *M. incognita* populations. Geographically close populations tend to be genetically close and geographically distant populations tend to be

genetically distinct, according to a dendrogram analysis with >90% bootstrap support (Silva et al. 2014).

Differences in pathogenicity between root-knot nematode populations may be a result of differences in aggressiveness and virulence. Aggressiveness, measured by the RF, determines the reproductive capacity of nematodes on a susceptible host, whereas virulence is the ability of the parasite to reproduce on a plant carrying resistance genes (Hussey and Janssen 2002). According to these definitions, Mj-7 was the most aggressive population, as it had high RF on soybean and *C. juncea*.

In addition to nematode pathogenicity and plant genetics, climatic conditions also influence parasitism. Some climatic variables, such as high temperatures, may favour the development and reproduction of the nematode while negatively affecting plant responses (Oliveira et al. 2011). Parthenogenetic species of the genus *Meloidogyne* are highly responsive to selection pressures arising from the environment and plant resistance genes (Castagnone-Sereno 2002; Castagnone-Sereno et al. 2007).

## **Conclusions**

*Crotalaria spectabilis* and *C. ochroleuca* were resistant to all studied populations of *M. javanica*. *C. juncea* was found susceptible to Mj-7 in one of the experiments. There were significant differences in the level of virulence of nematode populations, with Mj-7 being the most aggressive. Soybean was susceptible to all *M. javanica* populations.

## **Acknowledgements**

This work was supported by the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and the Brazilian Federal Agency for Support and Evaluation of Graduate Education (CAPES).

### **Declaration of conflicting interests**

We have no conflict of interest to declare.

### **Authors' contributions**

All authors contributed equally to the study.

### **References**

- Boneti JIS, Ferraz S. 1981. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro [Modification of the Hussey and Barker method for extraction of *Meloidogyne exigua* eggs from coffee roots]. Fitopatol Bras. 6(3):553. Portuguese.
- Braz GBP, Oliveira RS Jr, Constantin J, Raimondi RT, Ribeiro LM, Gemelli A, Takano HK. 2016. Weeds as alternative hosts for *Pratylenchus brachyurus*. Summa Phytopathol. 42:233–238.
- Cardoso MR, Dias-Arieira CR, Ribeiro NR, Almeida AA, Miamoto A, Lopes APM. 2019. *Crotalaria ochroleuca* susceptibility to *Heterodera glycines* races. J Agri Sci. 11:205.

- Carneiro RDG, Almeida MRA. 2001. Electrophoresis technique used in the study of root-knot nematode enzymes to identify species. *Nematol Bras.* 25:35–44.
- Castagnone-Sereno P. 2002. Genetic variability of nematodes: a threat to the durability of plant resistance genes. *Euphytica* 124:93–199.
- Castagnone-Sereno P, Bongiovanni M, Wajnberg E. 2006. Selection and parasite evolution: a reproductive fitness cost associated with virulence in the parthenogenetic nematode *Meloidogyne incognita*. *Evol Ecol.* 21:259–270.
- Charchar JM, Gonzaga V, Vieira JV, Oliveira VR, Moita AW, Aragão FAS. 2007. Effect of crop rotation to control *Meloidogyne* spp. on carrot in the North region of Minas Gerais State, Brazil. *Nematol Bras.* 3:173–179.
- Chitwood DJ. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. *Ann Rev Phytopathol.* 40:221–249.
- Claudius-Cole AO. 2015. Population changes of plant-parasitic nematodes associated with cover crops following a yam (*Dioscorea rotundata*) crop. *Trop Plant Pathol.* 40:193–199.
- Colegate SM, Gardner DR, Joy RJ, Betz JM, Panter KE. 2012. Dehydropyrrolizidine alkaloids, including monoesters with an unusual esterifying acid, from cultivated *Crotalaria juncea* (sunn hemp cv. "Tropic Sun"). *J Agric Food Chem.* 60:3541–3550.
- Costa MJN, Pasqualli RM, Prevedello R. 2014. Effect of soil organic matter content, cover crop and planting system on the control of *Pratylenchus brachyurus* in soybean. *Summa Phytopathol.* 40:63–70.
- Curto G, Dallavalle E, Santi R, Casadei N, D'Avino L, Lazzeri L. 2015. The potential of *Crotalaria juncea* L. as a summer green manure crop in comparison to Brassicaceae catch crops for management of *Meloidogyne incognita* in the Mediterranean area. *Eur J Plant Pathol.* 142:829–841.

- Davis EL, Koenning SR, Burton JW, Barker KR. 1996. Greenhouse evaluation of selected soybean germplasm for resistance to North Carolina populations of *Heterodera glycines*, *Rotylenchulus reniformis*, and *Meloidogyne* species. *J Nematol.* 28:590–598.
- Fassutiotis G, Skugas GP. 1969. The effect of pyrrolizidine alkaloid ester and plants containing pyrrolizidine on *Meloidogyne incognita acrita*. *J Nematol.* 1:287–288.
- Ferraz LCCB, Brown DJF. 2016. Nematologia de plantas: fundamentos e importância [Plant Nematology: fundamentals and importance]. Manaus: Norma Editora; p. 133–134. Portuguese.
- Ferreira DF. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciênc Agrotec.* 35:1039–1042.
- Gardiano CG, Krzyzanowski AA, Santiago DC, Abi-Saab OJG. 2012. Evaluation of genotypes of oat to parasitism of *Meloidogyne paranaensis* and *M. incognita* race 3. *Nematropica* 42:80–83.
- Giraldeli AL, San Gregorio JPR, Monquero PA, Aguilera MM, Ribeiro NM. 2017. Weeds hosts of nematodes in sugarcane culture. *Planta Daninha* 35:1–7.
- Hagemann TR, Benin G, Lemes C, Marchese JA, Martin TN, Pagliosa ES, Beche E. 2010. Effect of extracts from the above-ground part of oat genotypes on ryegrass and wild poinsettia. *Bragantia* 69:509–518,
- Hussey RS, Barker KR. 1973. A comparison of methods collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Dis Rep.* 57:1025–1028.
- Hussey RS, Janssen GJW. 2002. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species. In: Starr JL, Cook R, Bridge, J, editors. *Plant Resistance to Parasitic Nematodes*. Wallingford (UK): CAB International; p. 43–70.

- Inomoto MM, Antedomênico SR, Santos VP, Silva RA, Almeida GC. 2008. Greenhouse evaluation of the potential of sorghum, pearl millet and crotalaria in the management of *Meloidogyne javanica*. Trop Plant Pathol. 33:125–129.
- Juhász ACP, Pádua GP, Wruck DSM, Favoreto L, Ribeiro NR. 2013. Desafios fitossanitários para a produção de soja [Phytopathological challenges in soybean production]. Informe Agropecuário. 34:66–75. Portuguese.
- Karuri HW, Olago D, Neilson R, Mararo E, Villinger J. 2017. A survey of root-knot nematodes and resistance to *Meloidogyne incognita* in sweet potato varieties from Kenyan fields. Crop Prot. 92:114–121.
- Ferraz L, Motta L, Inomoto M, de Siqueira K, Machado A. 2007. Host status of green manures for two isolates of *Pratylenchus brachyurus* in Brazil. Nematology 9:799–805.
- Mateus MAF, Faria CMDR, Botelho RV, Dallemole-Giaretta R, Ferreira SGM, Zaluski WL. 2014. Aqueous extracts of medicinal plants on the control of *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White, 1919) Chitwood, 1949. Biosci J. 30:730–736.
- Miamoto A, Dias-Arieira CR, Cardoso MR, Puerari HH. 2016. Penetration and reproduction of *Meloidogyne javanica* on Leguminous Crops. J Phytopathol. 1164:890–895.
- Moraes SRG, Campos VP, Pozza EA, Fontanetti A, Carvalho GJ, Maximiniano C. 2006. Influence of legumes in the control of nematodes in organic crisp head lettuce and cabbage crops. Fitopatol Bras. 31:188–191.
- Oka Y. 2010. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments-A review. Appl Soil Ecol. 44:101–115.
- Oliveira DS, Oliveira RAL, Silva DG, Silva RV. 2011. Characterization of *Meloidogyne incognita* populations from São Paulo and Minas Gerais state and their pathogenicity on coffee plants. Trop Plant Pathol. 36:190–194.



- Oostenbrink M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Mendelingen Landbouwhogeschool Wageningen. 66:1–46.
- Ribeiro NR, Dias WP, Homechin M, Silva JFV, Francisco A. 2007. Avaliação da reação de espécies vegetais ao nematoide das lesões radiculares [Assessment of plant response to lesion nematodes]. In: Reunião de pesquisa de soja da região central do Brasil, 29., 2007, Campo Grande, MS. Resumos... Londrina: Embrapa Soja; p. 247–247. Portuguese.
- Roese AD, Oliveira RDL, Oliveira DS. 2007. Physiological variability of two populations of *Meloidogyne paranaensis*. Fitopatol Bras. 32:040–043.
- Rosa JMO, Westerich JN, Wilcken SRS. 2013. *Meloidogyne javanica* reproduction on vegetable crops and plants used as green manure. Trop Plant Pathol. 38:133–141.
- Santana SM, Dias-Arieira CR, Biela F, Cunha TPL, Chiamolera FM, Roldi M, Abe VHF. 2012. Antagonist plants in the management of *Meloidogyne incognita*, in sandy soil of vegetables growing areas. Nematropica 42:287–294.
- Santana-Gomes SM, Dias-Arieira CR, Vedoveto MVV, Roldi M, Molin HFD, Abe VHF. 2014. Crop succession in the control of *Pratylenchus brachyurus* in soybean. Nematropica 44:200–206.
- Silva, EH, Mattos VS, Furlaneto C, Giband M, Barroso PAV, Moita AW, Jorge A Jr, Correa VR, Castagnone-Sereno P, Carneiro RMDG. 2014. Genetic variability and virulence of *Meloidogyne incognita* populations from Brazil to resistant cotton genotypes. Eur J Plant Pathol. 1139:195–204.
- Silva GS, Ferraz GS, Santos JM. 1990. Histopathology of *Crotalaria* roots infected with *Meloidogyne javanica*. Fitopatol Bras. 15:46–48.
- Silva MCL, Santos CDG, Silva GS. 2016. *Meloidogyne* species associated with vegetables in microregions of the state of Ceará. Rev Ciênc Agron. 47:710–719.

- Silva RA, Nunes NA, Santos TFS, Iwano FK. 2018. Effect of crop rotation and crop sequences for the management of soybean nematodes in sandy soil. *Nematropica* 48:198–206.
- Taylor AL, Sasser JN. 1978. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Raleigh: Dept. of Plant Pathology, North Carolina State University and the United States Agency for International Development.
- Triantaphyllou AC. 1987. Genetics of nematode parasitism on plants. In: Veech JA, Dickson D, editors. *Vistas on Nematology*. Hyattsville (USA): Society of Nematologists.
- Chen S, Johnson G, Warnke S, Wyse D, Porter P. 2008. Effect of rotation crops on hatch, viability and development of *Heterodera glycines*. *Nematology* 10:869–882.
- Wofford DS, Gray FA, Eckert JW. 1989. Pathogenicity of two populations of *Meloidogyne hapla* Chitwood on alfalfa and sainfoin. *J Nematol.* 21:87–91.

**Table 1.1.** *Meloidogyne javanica* populations and their respective localities.

<b>Population</b>	<b>Locality</b>
Mj-1	Formosa do Rio Preto, Bahia, Brazil
Mj-2	Formosa do Rio Preto, Bahia, Brazil
Mj-3	Londrina, Paraná, Brazil
Mj-4	Alegrete, Rio Grande do Sul, Brazil
Mj-5	Luiz Eduardo Magalhães, Bahia, Brazil
Mj-6	Formosa do Rio Preto, Bahia, Brazil
Mj-7	Nova Maringá, Mato Grosso, Brazil

**Table 1.2.** Gall index of different populations of *Meloidogyne javanica* inoculated in *Crotalaria* species and soybean.

Population	Gall index			
	<i>C. ochroleuca</i>	<i>C. juncea</i>	<i>C. spectabilis</i>	Soybean
Experiment 1				
Mj-1	0.33 bB	0.00 bB	0.00 aB	2.83 cA
Mj-2	0.00 bB	0.00 bB	0.00 aB	2.17 dA
Mj-3	0.50 aB	0.00 bB	0.17 aB	2.83 cA
Mj-4	0.17 bB	0.17 bB	0.00 aB	2.50 dA
Mj-5	0.50 aC	2.00 aB	0.00 aC	4.50 aA
Mj-6	0.50 aB	0.17 bB	0.00 aB	3.17 cA
Mj-7	0.83 aB	0.00 bC	0.00 aC	4.00 bA
CV (%)	26.62			
Experiment 2				
Mj-1	0.00 bB	0.00 bB	0.00 aB	2.50 dA
Mj-2	0.17 aB	0.00 bB	0.00 aB	2.83 dA
Mj-3	0.00 bB	0.50 aB	0.00 aB	3.33 cA
Mj-4	0.00 bB	0.00 bB	0.00 aB	3.67 bA
Mj-5	0.00 bB	0.00 bB	0.00 aB	3.17 cA
Mj-6	0.00 bB	0.00 bB	0.00 aB	2.67 dA
Mj-7	0.33 aB	0.00 bB	0.00 aB	4.33 aA
CV (%)	42.25			

For each experiment, means followed by the same lowercase letter in a column and the same uppercase letter in a row do not differ ( $p < 0.05$ ) by the Scott–Knott and Tukey’s test, respectively. CV, coefficient of variation.

**Table 1.3.** Population density of different populations of *Meloidogyne javanica* inoculated in *Crotalaria* species and soybean.

Population	Population density (nematodes/g fresh root)			
	<i>C. ochroleuca</i>	<i>C. juncea</i>	<i>C. spectabilis</i>	Soybean
Experiment 1				
Mj-1	10 aB	26 aB	49 aB	376 cA
Mj-2	25 aB	6 bB	19 aB	479 cA
Mj-3	36 aB	4 bB	52 aB	1498 bA
Mj-4	21 aB	13 bB	29 a B	328 cA
Mj-5	25 aB	35 aB	43 aB	2516 aA
Mj-6	28 aB	53 aB	68 aB	1411 bA
Mj-7	55 aB	57 aB	34 aB	2054 aA
CV (%)	33.71			
Experiment 2				
Mj-1	4 aB	0 aB	23 aB	7558 aA
Mj-2	197 aB	140 aB	39 aB	4148 cA
Mj-3	18 aB	11 aB	20 aB	4863 cA
Mj-4	16 aB	18 aB	53 aB	6398 bA
Mj-5	3 aB	46 aB	35 aB	3562 cA
Mj-6	26 aB	59 aB	58 aB	2179 dA
Mj-7	113 aB	71 aB	42 aB	5432 bA
CV (%)	41.41			

For each experiment, means followed by the same lowercase letter in a column and the same uppercase letter in a row do not differ ( $p < 0.05$ ) by the Scott–Knott and Tukey’s test, respectively. CV, coefficient of variation.

**Table 1.4.** Reproduction factor of different populations of *Meloidogyne javanica* inoculated in *Crotalaria* species and soybean.

Population	Reproduction factor			
	<i>C. ochroleuca</i>	<i>C. juncea</i>	<i>C. spectabilis</i>	Soybean
Experiment 1				
Mj-1	0.11 aB	0.17 bB	0.20 aB	3.67 cA
Mj-2	0.28 aB	0.06 bB	0.14 aB	4.56 cA
Mj-3	0.34 aB	0.03 bC	0.24 aBC	12.75 bA
Mj-4	0.23 aB	0.14 bB	0.17 aB	3.80 cA
Mj-5	0.24 aB	0.39 aB	0.22 aB	22.25 aA
Mj-6	0.28 aB	0.52 aB	0.26 aB	11.56 bA
Mj-7	0.30 aBC	0.72 aB	0.16 aC	19.09 aA
CV (%)	26.80			
Experiment 2				
Mj-1	0.05 aB	0.00 aB	0.18 aB	26.35 eA
Mj-2	0.38 aB	0.71 aB	0.22 aB	30.66 dA
Mj-3	0.28 aB	0.17 aB	0.17 aB	38.45 cA
Mj-4	0.39 aB	0.23 aB	0.28 aB	46.26 bA
Mj-5	0.06 aB	0.59 aB	0.24 aB	36.46 cA
Mj-6	0.25 aB	0.73 aB	0.27 aB	16.78 fA
Mj-7	0.50 aB	1.04 aB	0.23 aB	62.03 aA
CV (%)	30.55			

For each experiment, means followed by the same lowercase letter in a column and the same uppercase letter in a row do not differ ( $p < 0.05$ ) by the Scott–Knott and Tukey’s test, respectively. CV, coefficient of variation.

## **CAPÍTULO 2**

### **Response of green manure species and millet cultivars to different populations of *Meloidogyne javanica***

Apresentado nas normas da Revista Ciência Agronômica

**Response of green manure species and millet cultivars to different populations of  
*Meloidogyne javanica***

Resposta de adubos verdes e cultivares de milho a diferentes populações de *Meloidogyne  
javanica*

**Lana Paola da Silva Chidichima<sup>1\*</sup>, Angélica Miamoto<sup>1</sup>, Luanna Karoline Rinaldi<sup>1</sup>,  
Arlindo Fabrício Corrêia<sup>2</sup>, and Cláudia Regina Dias-Arieira<sup>4</sup>**

**ABSTRACT** - The use of non-host cover crops is a key strategy for controlling root-knot nematodes in infested fields. However, the pathogenicity of nematode species to cover crops may vary between populations and localities. This study aimed to assess the response of green manure species and millet cultivars to four populations of *Meloidogyne javanica* (Mj-2, Mj-3, Mj-6 and Mj-7). Seedlings of radish (*Raphanus sativus*), pigeon pea (*Cajanus cajan*) cv. IAPAR 43, buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) cv. IPR 92-Altair and millet (*Pennisetum glaucum*) cvs. BRS 1501, ADR 300 and ADR 500 were inoculated with 1000 eggs and eventual second-stage juveniles of *M. javanica*. Soybean (*Glycine max*) cv. M6210 IPRO was used as control. At 60 days after inoculation, plants were harvested and evaluated for fresh root weight, gall index, number of nematodes per gram of root and reproduction factor (RF). The reproductive ability of *M. javanica* populations differed between hosts. Mj-2 was the most pathogenic to millet cv. ADR 300 (RF = 10.88), Mj-3 to buckwheat (RF = 53.46) and radish (RF = 4.81), Mj-6 to millet cv. ADR 500 (RF = 19.58) and Mj-7 to pigeon pea (RF = 2.99) and millet cv. BRS 1501 (RF = 15.05). Soybean was susceptible to all *M. javanica* populations, with RF values ranging from 33.69 to 257.22.

**Key words:** Aggressiveness. Root-knot nematode. Cover crops.



**RESUMO** - A utilização de plantas de cobertura consideradas não hospedeiras de nematoides é uma das estratégias que compõe o manejo para redução de *Meloidogyne javanica* em áreas agrícolas infestadas. Entretanto, a patogenicidade de cada espécie pode ser variável frente às diferentes populações e suas origens. Neste contexto, objetivou-se avaliar a resposta de adubos verdes e cultivares de milho a quatro populações de *M. javanica*. Assim, mudas de nabo forrageiro (*Raphanus sativus*), guandu anão (*Cajanus cajan*) cv. IAPAR 43, trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum*) cv. IPR 92 - Altar e três cultivares de milho (BRS 1501, ADR 300 e ADR 500) foram inoculadas com 1000 ovos e eventuais juvenis de segundo estágio do nematoide, utilizando soja cv. M6210 IPRO como testemunha. Após 60 dias da inoculação, avaliou-se a massa fresca da raiz, índice de galhas, número de nematoides por grama de raiz e fator de reprodução (FR). As populações de *M. javanica* apresentaram variabilidade quanto à capacidade de reproduzir-se nos hospedeiros estudados. A população Mj-2 foi a mais patogênica para milho cv. ADR 300 (FR = 10,88), a Mj-3 para trigo mourisco (FR = 53,46) e nabo forrageiro (FR = 4,81), a Mj-6 para milho ADR 500 (FR = 19,58) e a Mj-7 para guandu anão (FR = 2,99) e milho cv. BRS 1501 (FR = 15,05). A soja foi suscetível a todas as populações de *M. javanica*, com FR variando entre 33,69 e 257,22.

**Palavras-chave:** Agressividade. Nematoide das galhas. Plantas de cobertura.

## INTRODUCTION

*Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood is one of the most important plant-parasitic nematodes because of its wide host range and geographical distribution. This pathogen can substantially limit the yield of grains, vegetables and fruits (OLIVEIRA *et al.*, 2017). In soybean, *M. javanica* can cause losses up to 30% (DIAS *et al.*, 2010). A complex interaction occurs between plant and pathogen. The establishment of nematode feeding sites in the host root system causes cell hyperplasia and hypertrophy (FERRAZ; BROWN, 2016), leading to gall formation in roots and leaf chlorosis, and wilting during the hottest hours of the day (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

An efficient strategy to manage nematodes is the crop rotation with antagonistic, non-host or resistant plants (DEBIASI *et al.*, 2016). When used as cover crop, rotation or intercrops, millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br.], buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench), radish (*Raphanus sativus* L.) and pigeon pea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] showed to control nematode populations, preventing infection and/or nematode multiplication (ARAUJO FILHO *et al.*, 2010; MIAMOTO *et al.*, 2016). Although these crops have potential against nematodes, their susceptibility may vary depending on nematode population, climate and soil conditions (SILVA *et al.*, 2014; CASTAGNONE-SERENO *et al.*, 2019). Nematode pathogenicity is also determined by environmental conditions and genetic mutations (CASTAGNONE-SERENO *et al.*, 2019). Because *M. javanica* reproduces by mitotic parthenogenesis, it is likely that mechanisms other than those related to genes contribute to the differences in virulence observed between populations of the same species (BARBARY *et al.*, 2015).

Identification of the aggressiveness and pathogenicity of nematode populations is crucial for the development of effective control strategies. This study aimed to assess the response of green manure species and millet cultivars to different populations of *M. javanica*.

## MATERIAL AND METHODS

### Collection and maintenance of nematode populations

Samples of soil and plant roots with galls were collected between March and May 2017 in Formosa do Rio Preto, Bahia (Mj-2 and Mj-6); Londrina, Paraná (Mj-3); and Nova Maringá, Mato Grosso (Mj-7), Brazil. At the Laboratory of Nematology of the State University of Maringá (Paraná, Brazil), 3 L of soil and roots from each locality was placed in pots and sown with four seeds of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Santa Clara or okra [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench] cv. Santa Cruz to promote nematode multiplication. Pots were kept in a greenhouse (23°24'17.39"S 51°56'27.00"W, 596 m altitude) during 60 days. Irrigation was applied as needed.

After 60 days of culture, some plants were harvested for isoenzymatic analysis and inoculum purification. Twenty milky-white females and their egg masses were collected from each sample using a pair of fine-tipped forceps and a stereoscope microscope. Females were transferred to capillary tubes containing extraction buffer (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001), macerated with a needle, mixed with bromophenol blue and loaded onto a polyacrylamide gel. A sample of *M. javanica* was used as an internal standard for phenotypic comparison.

Vertical gel electrophoresis was conducted using a PowerPac Basic apparatus (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) under refrigeration (8 °C). The run was performed at 100 V until bromophenol blue reached the stacking gel and then at 200 V. The gel was transferred

to a glass tray containing a staining solution (50 mL of phosphate buffer, 50 mg of Fast Blue RR Salt and 1.5 mL of 1%  $\alpha$ -naphthyl acetate), incubated in the dark at 37 °C for 30 min until dark bands appeared and incubated with a fixative solution (50 mL of acetic acid, 50 mL of distilled water and 10 mL of methyl alcohol) for 30 min. When the staining was complete, the gel was placed on wet cellophane and allowed to dry at room temperature on an acrylic support. Band migration was determined in relation to the migration of the internal standard.

One egg mass of each *M. javanica* female was inoculated on tomato, individually. Tomato plants were transplanted to pots containing 2 L of autoclaved soil (120 °C for 2 h) and kept under greenhouse conditions for 5 months for nematode multiplication.

### **Response of green manure species and millet cultivars to *Meloidogyne javanica***

Two experiments were conducted under greenhouse conditions using a 4 × 4 factorial design with six replications. In the first experiment, soybean cv. M6210 IPRO (control) and three green manure species (radish, pigeon pea cv. IAPAR 43 and buckwheat IPR 92-Altar) were inoculated with four populations of *M. javanica*. The second experiment comprised soybean cv. M6210 IPRO (control) and millet cvs. BRS1501, ADR 300 and ADR 500 inoculated with four *M. javanica* populations. Experiments were performed between April and June 2019, when the average minimum temperature was 16.2 °C and the average maximum 26.3 °C.

Seeds were sown in pots containing commercial substrate (MecPlant®). Fifteen days after sowing, seedlings were transplanted to expanded polystyrene containers filled with 500 mL of substrate (1:1 mixture of clay soil and sand autoclaved for 2 h at 120 °C). At the time of transplant, plants were inoculated with 3 mL of a suspension containing 1000 eggs and eventual second-stage juveniles of *M. javanica*. Nematodes were extracted from roots

according to Boneti and Ferraz (1981), and the inoculum was adjusted using a Peters counting chamber under a light microscope.

At 60 days after sowing, plants were harvested and the roots washed, blotted dry with paper towels and weighed to obtain the fresh root weight. Galls were counted and the gall index was rated on a scale of 1 to 5, where 0 indicates absence of galls, 1 indicates the presence of 1 to 2 galls, 2 represents 3 to 10 galls, 3 represents 11 to 30 galls, 4 represents 31 to 100 galls and 5 indicates the presence of more than 100 galls per plant (TAYLOR; SASSER, 1978). Nematodes were extracted from roots according to Boneti and Ferraz (1981) and counted under a light microscope to obtain the total number of nematodes, which was divided by the fresh root weight to obtain the nematode population density (number of nematodes per gram of root). The reproduction factor (RF) was calculated as the total number of nematodes divided by the inoculum size (OOSTENBRINK, 1966). Plants with an  $RF < 1$  were considered resistant and those with an  $RF \geq 1$  were considered susceptible to the nematode.

### **Statistical analysis**

Data were subjected to analysis of variance followed by Tukey's test at  $P < 0.05$ . When necessary, data were transformed to  $\sqrt{(x + 1)}$  to meet normality assumptions based on the Shapiro–Wilk test. Statistical analyses were performed using the ExpDes.pt package (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2018) in R version 3.5.1 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2018).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Green manure species

The aggressiveness of *M. javanica* populations to green manure species varied for buckwheat and soybean (Table 2.1). Host × nematode population interaction effects were significant for all parameters. Nematode parameters were high in soybean, confirming the crop's suitability as a control (Table 1). Mj-3 and Mj-6 were the most aggressive to soybean (GI = 5.0), followed by Mj-7 (GI = 3.5) and Mj-2 (GI = 2.67). Mj-2 had the lowest population density (9813 nematodes g<sup>-1</sup> root) in the control; all other population densities were higher than 38000 nematodes g<sup>-1</sup> root. Although the RF of Mj-2 on soybean was high (33.69), it was still lower than that of the other populations (mean RF = 221; Table 2.1).

In pigeon pea, Mj-7 infection resulted in the highest GI (3.5); and Mj-6, in the lowest (GI = 0) (Table 2.1). Population density and RF did not vary between populations. Pigeon pea was susceptible to Mj-2 (RF = 2.56) and Mj-7 (RF = 2.99) and resistant to Mj-3 (RF = 0.58) and Mj-6 (RF = 0.65).

The resistance of pigeon pea cv. IAPAR-43 to *M. javanica* was previously reported (MIAMOTO *et al.*, 2016; PINK; WESTERICH; WILCKEN, 2013). Its use as a rotation crop with soybean is indicated because of the low susceptibility to *Pratylenchus zae* Graham and *P. brachyurus* (SANTANA-GOMES *et al.*, 2019). However, our results showed that caution must be taken when using pigeon pea to control *M. javanica*, because, although its RF was lower than that of soybean, pigeon pea was susceptible to Mj-2 and Mj-7.

**Table 2.1** - Gall index, nematode population density and reproduction factor of *Meloidogyne javanica* populations inoculated in green manure species and soybean (control)

Population	Gall index							
	Pigeon pea		Radish		Buckwheat		Soybean	
Mj-2	1.33	bAB	0.67	bB	2.00	bA	2.67	bA
Mj-3	1.67	bB	3.17	aAB	4.50	aA	5.00	aA
Mj-6	0.00	cC	2.17	aB	4.00	aA	5.00	aA
Mj-7	3.50	aA	2.50	aA	3.50	abA	3.50	abA
CV (%)	14.83							
Population density (nematodes g <sup>-1</sup> root)								
Mj-2	3889	aAB	1438	aB	1116	bB	9813	bA
Mj-3	94	aC	3124	aC	13316	aB	40775	aA
Mj-6	184	aB	2076	aB	1773	bB	45161	aA
Mj-7	2987	aB	2614	aB	4522	abB	38422	aA
CV (%)	48.79							
Reproduction factor								
Mj-2	2.56	aA	1.69	aA	2.94	bA	33.69	bA
Mj-3	0.58	aC	4.81	aC	53.46	aB	257.22	aA
Mj-6	0.65	aB	2.55	aB	5.85	bB	221.93	aA
Mj-7	2.99	aB	2.95	aB	7.71	bB	224.90	aA
CV (%)	55.73							

For each parameter, means followed by the same lowercase letter in a column and uppercase letter in a row did not differ ( $P > 0.05$ ) by Tukey's test. Data were transformed to  $\sqrt{(x + 1)}$  before analysis. CV, coefficient of variation

The ability of *M. javanica* to infect a wide variety of hosts makes it difficult to select rotation crops for nematode control. Plants that are considered susceptible ( $RF > 1$ ) should not be disregarded if their RF is lower than that of highly susceptible plants, such as soybean and corn, and especially if they provide other benefits, including nitrogen fixation, competition with weeds and high production of organic matter.

Radish had the lowest GI (0.67) when inoculated with Mj-2, indicating that this population was the least aggressive to the crop (Table 1). Population densities did not differ, and the RF ranged from 1.69 (Mj-2) to 4.81 (Mj-3). Previous studies found that *M. javanica* had an RF of 2.14, 2.44 and 2.20 on radish in three different seasons (ROSA; WESTERICH; WILCKEN, 2013). As observed for pigeon pea, the RF on radish was much lower than that on soybean (33.69 to 257.22). Radish can grow in weak and acid soils, contributing to soil decompaction, nutrient cycling (KRENCHINSKI *et al.*, 2018) and control of *Heterodera glycines* Ichinohe and *Rotylenchulus reniformis* Lindford & Oliveira (INOMOTO; ASMUS, 2009).

For buckwheat, Mj-3 was the most aggressive population, with a GI of 4.50, an RF of 53.46 and a population density of 13316 nematodes  $g^{-1}$  root (Table 1). RF values of the other nematode populations ranged from 2.94 to 7.71. The susceptibility of buckwheat to *M. javanica* shows that care must be taken when using the crop as a control strategy. The literature lacks information about the plant's response to nematodes, precluding comparison of results. Aissani, Balti and Sebai (2018) showed that polyphenols, fagopyrine and aldehydes extracted from buckwheat had nematicidal effects on *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood. This plant is considered a green manure species because it regenerates depleted soils, controls weeds and is tolerant to low soil pH and high aluminum levels ( $Al^{3+}$ ) (KLEIN *et al.*, 2010).



When comparing the different crops, we observed that soybean and buckwheat had the highest GI, except when inoculated with Mj-7; plants inoculated with this population did not differ in GI (Table 2.1). Nematode population density was highest in soybean for all *M. javanica* populations. In pigeon pea, radish and buckwheat, Mj-3 had the highest population density. The population densities of Mj-2, Mj-6 and Mj-7 did not differ between crops. Soybean had the highest RF for all populations, except for Mj-2, which did not differ between crops (Table 2.1). On buckwheat, Mj-3 showed the highest RF.

Variation in nematode pathogenicity and virulence is not uncommon. However, this characteristic increases the difficulty in controlling root-knot nematodes using crop rotation and resistant plants (BUCKY *et al.*, 2017). Potato cultivars were shown to have different susceptibilities to *M. javanica* populations (LIMA-MEDINA *et al.*, 2017). Mattos *et al.* (2016) evaluated the aggressiveness of *M. javanica* and *M. morocciensis* populations extracted from native vegetation and soybean to different soybean genotypes. The authors found that nematodes extracted from soybean fields were more aggressive than those extracted from native plants. Such studies demonstrate the importance of using aggressive nematode populations to test the susceptibility of resistant plants and rotation crops (LIMA-MEDINA *et al.*, 2017). However, it is important to bear in mind that a crop that is resistant to a given nematode population may be susceptible to another. Therefore, it is necessary to investigate the virulence characteristics of nematode populations occurring in each locality (BUCKI *et al.*, 2017).

*Meloidogyne javanica* reproduces by mitotic parthenogenesis, sharing the same genetic heritage as its offspring. However, phenotypic variations may occur when individuals are exposed to unfavorable environments, such as resistant plants (BARBARY *et al.*, 2015). Thus, virulent specimens may descend from avirulent nematodes, contributing to the

maintenance of nematodes in the field over the generations (CASTAGNONE-SERENO *et al.*, 2019). Virulent nematodes may emerge as a result of adaptive genetic variation in response to stress generated by host resistance (CASTAGNONE-SERENO *et al.*, 2019). Sharma *et al.* (2018) argued that adaptive genetic variation is an evolutionary force that promotes morphological, physiological and metabolic adaptations in the face of changes to the environment.

### **Millet cultivars**

Significant interaction effects between *M. javanica* populations and cultivars were observed for all parameters. GI values did not vary between populations in BRS 1501 and soybean (Table 2.2). Mj-3 and Mj-7 resulted in the highest GI in ADR 300, and Mj-6 and Mj-7 in ADR 500.

Nematode population density did not vary between populations in BRS 1501 and ADR 300. In ADR 500 and soybean, Mj-6 had the highest population density. In soybean, the population density of Mj-3 did not differ from that of Mj-6 (Table 2.2).

The RF of *M. javanica* populations on BRS 1501 or ADR 300 did not differ significantly, although some values were five times higher than others (Table 2.2). On BRS 1501, RF ranged from 2.73 (Mj-3) to 15.05 (Mj-7); and on ADR 300, from 2.36 (Mj-6) to 10.88 (Mj-2). ADR 500 had the highest RF (about 19) when inoculated with Mj-6 and Mj-7, much higher than when inoculated with Mj-2 (3.28). On soybean, the highest RF was obtained with Mj-3 (152.91) and Mj-6 (124.01), higher than that obtained with Mj-2 (43.31) and Mj-7 (72.66).

**Table 2.2** - Gall index, nematode population density and reproduction factor of *Meloidogyne javanica* populations inoculated in millet cvs. BRS 1501, ADR 300, ADR 500 and soybean (control)

Population	Gall index							
	BRS 1501		ADR 300		ADR 500		Soybean	
Mj-2	0.43	aB	1.00	abB	0.86	bB	2.71	aA
Mj-3	1.00	aB	1.71	aB	1.43	bB	4.86	aA
Mj-6	0.43	aB	0.14	bB	3.43	aA	5.00	aA
Mj-7	1.57	aB	1.43	aB	2.86	aAB	3.71	aA
CV (%)	19.45							
Population density (nematodes g <sup>-1</sup> root)								
Mj-2	464	aB	1323	aB	346	bB	17429	bA
Mj-3	369	aB	933	aB	860	abB	38793	aA
Mj-6	389	aBC	160	aC	3430	aB	38115	aA
Mj-7	1753	aB	257	aB	3356	abB	19930	bA
CV (%)	40.96							
Reproduction factor								
Mj-2	3.00	aB	10.88	aB	3.28	bB	43.31	bA
Mj-3	2.73	aB	5.70	aB	6.86	abB	152.91	aA
Mj-6	3.03	aC	1.36	aC	19.58	aB	124.01	aA
Mj-7	15.05	aB	1.98	aB	19.45	aB	72.66	bA
CV (%)	37.93							

For each parameter, means followed by the same lowercase letter in a column and uppercase letter in a row did not differ ( $P > 0.05$ ) by Tukey's test. Data were transformed to  $\sqrt{(x + 1)}$  before analysis. CV, coefficient of variation.

The variation in susceptibility between millet cultivars corroborates previous studies on BRS 1501. The cultivar was found to be resistant to *M. javanica* in a study conducted by Gabriel *et al.* (2018), but susceptible to *M. javanica* in a study from Inomoto *et al.* (2008).

Soybean had the highest GI compared to other crops, except ADR 500, from which it did not differ when inoculated with Mj-6 (Table 2.2). Population density and RF were higher in soybean than in millet cultivars.

The RF of Mj-2 ranged from 3.00 on BRS 1501 to 43.31 on soybean (Table 2). The discrepancy between these crops was even higher with Mj-3: the RF value ranged from 2.73 (BRS 1501) to 152.91 (soybean). The RF of Mj-6 ranged from 1.36 (ADR 300) to 124.01 (soybean), and that of Mj-7 ranged from 1.98 (ADR 300) to 72.66 (soybean).

Millet and millet cvs. ADR 300 and ADR 500 were shown to be susceptible to *M. javanica* (GABRIEL *et al.*, 2018; RAM *et al.*, 2006) but resistant to *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Schuurmans Stekhoven and *R. reniformis* (GARDIANO; KRZYZANOWSKI; SAAB, 2012; NEVES, 2013). The plant has interesting characteristics for use as a cover crop, such as rapid growth, vigorous root system, high tillering potential, high nutrient cycling ability and pathogen resistance (PADOVAN *et al.*, 2012). The variability in the aggressiveness of *M. javanica* populations to millet cultivars is likely due to genetic alterations in nematodes, which influences how these individuals respond to plant defense mechanisms (CASTAGNONE-SERENO, 2002). As a precautionary measure, it is necessary to monitor nematode population densities in millet on a regular basis.

## CONCLUSION

Green manure species and millet cultivars varied in their responses to *M. javanica* populations of different origins. Mj-2 was the most aggressive to millet cv. ADR 300, Mj-3 to

buckwheat and radish, Mj-6 to millet cv. ADR 500 and Mj-7 to pigeon pea and millet cv. BRS 1501. Soybean was susceptible to all *M. javanica* populations.

### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Brazilian Federal Agency for Support and Evaluation of Graduate Education (CAPES) for the Masters scholarship granted to LPSC and the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for the Research Productivity Fellowship awarded to CRDA.

### REFERENCES

- AISSANI, N.; BALTI, R.; SEBAI, H. Antiparasitic activity of *Fagopyrum esculentum* Moench on *Meloidogyne incognita*. **Journal of Toxicological Analysis**, v. 1, n. 1:8, p. 1-6, 2018.
- ARAÚJO FILHO, J.V.; INOMOTO, M.M.; GODOY, R.; FERRAZ, L.C.C.B. Resistência de linhagens de feijão-guandu a *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 34, n. 2, p. 75-81, 2010.
- BARBARY, A; DJIAN-CAPORALINO, C; PALLOIX, A; CASTAGNONE-SERENO, P. Host genetic resistance to root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., in Solanaceae: From genes to the field. **Pest Management Science**, v. 71, n. 12, p. 1591-1598, 2015.
- BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, n. 3, p. 553, 1981.
- BUCKI, P.; PARAN, I.; OZALVO, R.; IBERKLEID, I.; GANOT, L.; MIYARA, S. B. Pathogenic variability of *Meloidogyne incognita* populations occurring in papper-production

greenhouse in Israel Toward Me1, Me3 and N pepper resistance genes. **Plant Disease**, v. 101, n. 8, p. 1391-1401, 2017.

CARNEIRO, R. D. G.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese USADA Nos Estudos de Enzimas dos nematoides de galhas para identificação de Espécies. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n. 1, p. 35-44, 2001.

CARNEIRO, R. G.; MORITZ, M. P.; MÔNACO, A. P. A.; NAKAMURA, K. C.; SCHERER, A. Reação de milho, sorgo e milheto a *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 10-13, 2006.

CASTAGNONE-SERENO, P. Genetic variability of nematodes: threat to the durability of plant resistance genes? **Euphytica**, v. 124, n. 2, p. 193-199, 2002.

CASTAGNONE-SERENO, P.; MULET, K.; DANCHIN, E. G. J.; KOUTSOVOULOS, G. D.; KARALIC, M.; ROCHA, M.; BAILLY-BECHET, M.; PRATX, L.; PERFUS-BARBEOCH, L.; ABAD, P. Gene copy number variations as signatures of adaptive evolution in the parthenogenetic, plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. **Molecular Ecology**, v. 28, n. 10, p. 2559-2572, 2019.

DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.; DIAS, W. P.; RAMOS JUNIOR, E. U.; BALBINOT JUNIOR, A. A. Práticas culturais na entressafra da soja para o controle de *Pratylenchus brachyurus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 10, p. 1720-1728, 2016.

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

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Editora, 2016, 250 p.

- FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. **ExpDes.pt**: Pacote Experimental Designs (Portuguese). R package version 1.2.0. 2018.
- GABRIEL, M.; KULCZYNSKI, S. M.; BELLE, C.; KIRSCH, V. G.; CALDERAN-BISOGNIN, E. A. Reação de gramíneas forrageiras a *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus brachyurus*. **Nematropica**, v. 48, n. 2, p. 155-163, 2018.
- GARDIANO, C. G.; KRZYZANOWSKI, A. A.; SAAB, O. J. A. Hospedabilidade de plantas melhoradoras de solo à *Rotylenchulus reniformis* Linford e Oliveira (1940). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, n. 2, p. 313-317, 2012.
- INOMOTO, M. M.; ASMUS, G. L. Culturas de cobertura e de rotação devem ser plantas não hospedeiras de nematoides. **Visão Agrícola**, v. 6, n. 2, p. 112-116, 2009.
- INOMOTO, M. M.; ANTEDOMÊNICO, S. R.; SANTOS, V. P.; SILVA, R. A.; ALMEIDA, E G. C. Avaliação em casa e vegetação do uso de sorgo, milho e crotalária no manejo de *Meloidogyne javanica*. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 2, p. 125-129, 2008.
- KLEIN, V. A.; NAVARINI, L. L.; BASEGGIO, M.; MADALOSSO, T.; COSTA, L. O. Trigo mourisco: uma planta de triplo propósito e uma opção para rotação de culturas em áreas sob plantio direto. **Revista Plantio Direto**, v. 117, 2010. Disponível em: <[http://www.plantiodireto.com.br/?body=cont\\_int&id=991](http://www.plantiodireto.com.br/?body=cont_int&id=991)>. Acesso em: 26 outubro 2018.
- KRENCHINSKI, F. H.; CESCO, V. J. S.; RODRIGUES, D. M.; ALBRECHT, L. P.; WOBETO, K. S.; ALBRECHT, A. J. P. Agronomic performance of soybean grown in succession to winter cover crops. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, n. 8, p. 909-917, 2018
- LIMA-MEDINA, I.; GOMES, C. B.; CORREA, V. R.; MATTOS, V. S.; CASTAGNONE-SERENO, P.; CARNEIRO, R. M. D. G. Genetic diversity of *Meloidogyne* spp. parasitizing

potato in Brazil and aggressiveness of *Meloidogyne javanica* populations on susceptible cultivars. **Nematology**, v. 19, n. 1, p. 69-80, 2017.

MATTOS, V. S.; FURLANETTO, C.; SILVA, J. G. P.; SANTOS, D. F.; ALMEIDA, M. R. A.; CORREA, V. R.; MOITA, A. W.; CASTAGNONE-SERENO, P.; CARNEIRO, R. M. D. G. *Meloidogyne* spp. populations from native Cerrado and soybean cultivated areas: genetic variability and aggressiveness. **Nematology**, v. 18, n. 5, p. 505-515, 2016.

MIAMOTO, A.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; CARDOSO, M. R.; PUERARI, H. H. Penetration and Reproduction of *Meloidogyne javanica* on Leguminous Crops. **Journal Phytopathology**, v. 164, n. 11-12, p. 890-895, 2016.

NEVES, D. L. Reprodução de *Pratylenchus brachyurus* em diferentes gramíneas forrageiras. **Global Science and Technology**, v. 6, n. 1, p. 134-140, 2013.

OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. **Mendelingen Landbouwhoge School**, v. 66, n. 1, p.1- 46, 1966.

OLIVEIRA, C. M.; SOUZA JUNIOR, I. T.; ARAUJO FILHO, J. V.; FREITAS, M. A.; ROCHA, M. R.; PETROFEZA, S. Morphological, biochemical and molecular characterization of *Meloidogyne* spp. populations from Brazilian soybean production regions. **Ciência Rural**, v. 47, n. 05, p. 1-4, 2017.

PADOVAN, M. P.; MOTTA, I. S.; CARNEIRO, L. F.; MOITINHO, M. R.; SALOMÃO, G. B. Dinâmica de acúmulo de massa e nutrientes pelo milho para afins de adubação verde em sistemas de produção sob bases ecológicas. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 7, n. 1, p. 95-103, 2012.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2018.



ROSA, J. M. O; WESTERICH, J. N.; WILCKEN, S. R. S. Reprodução de *Meloidogyne javanica* em olerícolas e em plantas utilizadas na adubação verde. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 2, p. 133-14, 2013.

SANTANA-GOMES, S. M.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERREIRA, J. C. A.; SCHWENGBER, R. P.; BALDISERA, S. S. Reproduction of *Pratylenchus zae* and *P. brachyurus* in cover crops. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 2, p. 295-301, 2019.

SHARMA, V.; HECKER, N.; ROSCITO, J. G.; FOERSTER, L.; LANGER, B. E.; HILLER, M. A genomics approach reveals insights into the importance of gene losses for mammalian adaptations. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 1215, 2018.

SILVA, E. H.; MATTOS, V. S.; FURLANETO, C.; GIBAND, M.; BARROSO, P. A. V.; MOITA, A. W.; JORGE-JUNIOR, A.; CORREA, V. R.; CASTAGNONE-SERENO, P.; CARNEIRO, R. M. D. G. Genetic variability and virulence of *Meloidogyne incognita* populations from Brazil to resistant cotton genotypes. **European Journal Plant Pathology**, v. 139, n. 1, p. 195-204, 2014.

TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species)**. North Carolina: Dept. of Plant Pathology, North Carolina State University. 1978, 111 p.

## CONCLUSÃO GERAL

Com os resultados obtidos no presente trabalho foi possível concluir que as espécies *C. spectabilis* e *C. ochroleuca* são resistentes às populações estudadas e a espécie *C. juncea* apresentou-se suscetível à população Mj-7. Para as cultivares de milho, a cv. ADR 300 foi mais suscetível à população Mj-2, a cv. ADR 500 à população Mj-6 e a cv. BRS 1501 à população Mj-7. Para os adubos verdes, o trigo mourisco e o nabo forrageiro se mostraram mais suscetíveis à população Mj-3 e o guandu anão à população Mj-7. A soja se mostrou suscetível a todas as populações de *Meloidogyne javanica*.