

## CAPÍTULO 6

# Melhoramento genético do algodoeiro para resistência aos nematoídes: seleção assistida por marcadores moleculares

**Nelson Dias Suassuna**

Embrapa Algodão - Goiânia/GO

**Leonardo Bitencourt Scoz**

IMA - Primavera do Leste/MT

**Marc Giband**

Cirad - UMR Agap/França e Embrapa Algodão - Goiânia/GO

### 1. Introdução

A importância de doenças e pragas na cultura do algodoeiro no Brasil aumenta a cada ano, em razão das perdas provocadas pela ação dos patógenos e da necessidade de implantação de medidas preventivas e/ou curativas que elevam o custo de produção. Das pragas, as três espécies de fitonematóides que causam danos e perdas econômicas à cultura, em ordem de importância: *Meloidogyne incognita* (nematóide-das-galhas), *Rotylenchulus reniformis* (nematóide reniforme) e *Pratylenchus brachyurus* (nematóide das lesões radiculares).

No Brasil, atualmente, o manejo de fitonematoides em algodoeiro é realizado preferencialmente por meio de rotação de culturas e uso de variedades com níveis intermediários de tolerância. O controle químico com nematicidas, utilizado no passado, não se aplica à realidade atual da cotonicultura brasileira, em razão de sua ineficácia e dos danos ambientais causados por esses produtos. Portanto, o uso de variedades resistentes é considerado a maneira mais eficaz, de baixo custo e de menor dano ambiental para controle de doenças e pragas. Infelizmente, há poucas cultivares comerciais de algodoeiro com níveis satisfatórios de resistência aos nematoides e com bom potencial de produção e qualidade de fibra adequada, o que se deve principalmente à falta de material genético com altos níveis de resistência e desempenho agrônômico aceitável para uso nos programas de melhoramento, ao desconhecimento da herança desse caráter e também à dificuldade em selecionar material com alto nível de resistência.

Há altos níveis de resistência ao nematoide-das-galhas e ao nematoide reniforme em material não adaptado e em espécies silvestres de algodoeiro, que são fontes de genes para os melhoristas. Avanços na área da genética molecular e na identificação de marcadores moleculares associados aos loci de resistência permitiram a recente disponibilização de linhagens de elite, com altos níveis de resistência a um ou outro nematoide, e, em alguns casos, a ambos.

## **2. Fontes de resistência aos fitonematoides do algodoeiro para o melhoramento**

### **2.1 Fontes de resistência ao nematoide-das-galhas**

Por conta da importância para a cotonicultura mundial, numerosos trabalhos procuraram identificar fontes de resistência ao nematoide-das-galhas em acessos de algodoeiro herbáceo e em outras espécies do gênero *Gossypium* (Robinson & Percival, 1997; Robinson *et al.*, 2004; Starr *et al.*, 2010; Mota *et al.*, 2013). Nos Estados Unidos, caracterizaram-se três principais fontes de resistência ao nematoide-das-galhas em algodoeiro herbáceo: as variedades Acala NemX e Stoneville LA887 e o acesso Auburn 623 RNR.

A fonte de resistência moderada da cultivar Acala NemX é de

origem desconhecida; a resistência moderada da cultivar Stoneville LA887 é oriunda do acesso Clevevilt 6, enquanto o alto nível de resistência do acesso Auburn 623 RNR é oriundo da segregação transgressiva do cruzamento entre dois acessos moderadamente resistentes, Clevevilt 6 e o silvestre Wild Mexican Jack Jones (Shepherd, 1974; Robinson *et al.*, 2001). A resistência do acesso Auburn 623 RNR foi incorporada a diversas linhagens melhoradas por cruzamento, gerando a série de linhagens “M” (M-120 RNR, M-240 RNR, M-315 RNR etc.) (Shepherd, 1982; Robinson *et al.*, 2001).

Apesar de apresentarem altos níveis de resistência ao nematoide-das-galhas, essas linhagens nunca foram lançadas como variedades por serem agronomicamente inferiores (Koenning *et al.*, 2001). Recentemente, foi lançada a linhagem GA 120R1B3, que combina o alto nível de resistência encontrado no acesso M-120 RNR, derivado de Auburn 623 RNR, e a qualidade de fibra igual à de materiais comerciais (Davis *et al.*, 2011).

No Brasil, a base dos trabalhos iniciais conduzidos pelo IAC para incorporação de resistência ao complexo nematoide-das-galhas e mancha de *fusarium* foi a cultivar Auburn 56 (Gridi-Papp *et al.*, 1984), que apresenta resistência moderada a *M. incognita*. Esse trabalho permitiu a obtenção de cultivares com resistência moderada ao complexo nematoide-*Fusarium* (cultivares IAC 17, IAC 20, IAC 23 e IAC 24). Porém, Auburn 56 possui apenas resistência moderada e foi substituída por material com alto nível de resistência. Atualmente, os diversos programas de melhoramento do Brasil estão utilizando a linhagem Auburn 623 RNR — ou material derivado dela — como fonte de altos níveis de resistência.

## 2.2 Fontes de resistência ao nematoide reniforme

Até o momento, não se identificaram fontes de resistência ao nematoide reniforme na espécie *G. hirsutum*. Após exaustiva busca em 1.866 acessos primitivos de *G. hirsutum* e 907 de *G. barbadense*, nenhum deles apresentou resistência completa (Robinson *et al.*, 2004). Entretanto, alta resistência foi encontrada em um ou mais acessos de *G. longicalyx* J. B. Hutch. & B. J. S. Lee, *G. somalense* (Gürke) J. B. Hutch., *G. stocksii* Mast., *G. arboreum* L. e *G. barbadense* L. (Yik & Birchfield, 1984).

Quatro acessos de *G. longicalyx* impediram a reprodução do nematoide e foram classificados como imunes (Yik & Birchfield, 1984). A resistência presente em *G. longicalyx* foi introgridida em cultivares comerciais de algodoeiro (Robinson *et al.*, 2007) e, como consequência, foram desenvolvidas as linhagens LONREN-1 e LONREN-2 (Bell *et al.*, 2014). Apesar de não permitirem a multiplicação do nematoide, essas linhagens sofrem danos nas raízes pela penetração de juvenis em solos com alta infestação de *R. reniformis*, o que leva a um desenvolvimento inicial mais lento, com ciclo da cultura alongado (Sikkens *et al.*, 2011). Logo, essa fonte de resistência foi abandonada.

Cinco acessos de *G. barbadense* (GB-49, GB-13, GB-264, GB-171 e GB-713), foram classificados como resistentes por reduzirem drasticamente a reprodução de *R. reniformis*, principalmente o acesso GB-713 (Robinson *et al.*, 2004). Por conta do alto nível de resistência encontrado nesse acesso, ele foi utilizado para transferir tais genes de resistência para *G. hirsutum*, o que resultou no desenvolvimento da linhagem BARBREN-713 (Bell *et al.*, 2015).

Além de *G. longicalyx* e *G. barbadense*, também encontrou-se resistência ao nematoide reniforme nas espécies diploides *G. aridum* (Sacks & Robinson, 2009) e *G. arboreum* (Avila *et al.*, 2005; Sacks & Robinson, 2009; Erpelding & Stetina, 2013).

### **3. Marcadores moleculares e seleção assistida por marcadores**

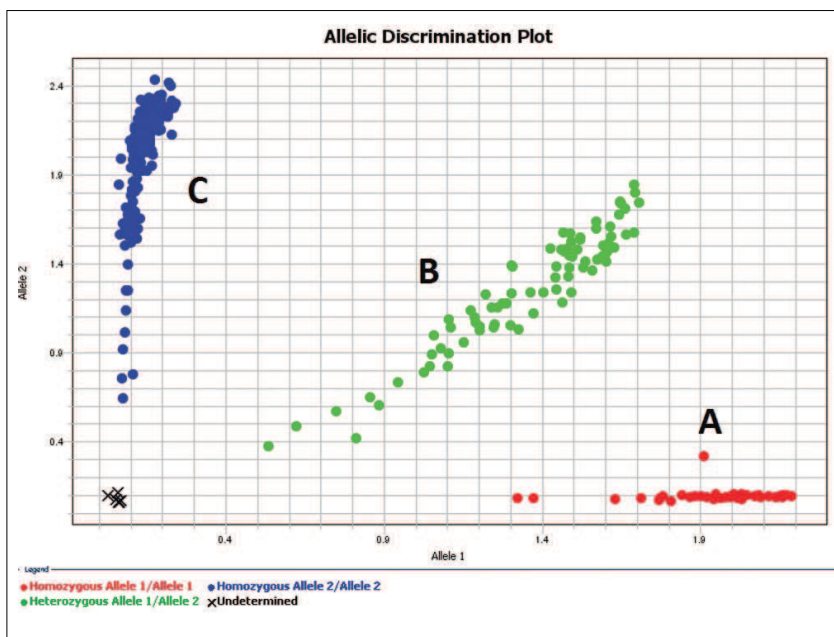
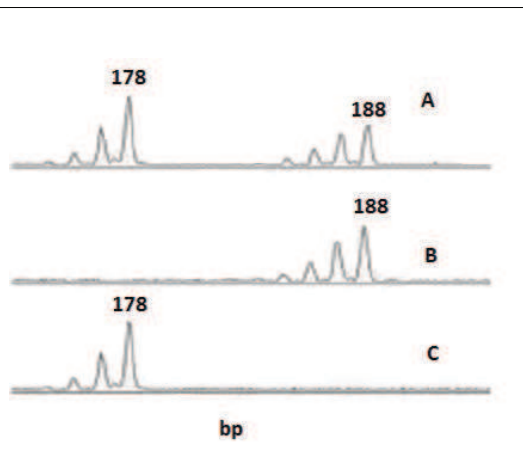
Apesar de fontes de resistência ao nematoide-das-galhas e ao nematoide reniforme terem sido identificadas há décadas, só recentemente que material melhorado ou linhagens avançadas com altos níveis de resistência e desempenho agrônomico comparável ao de variedades atualmente no mercado foram postos à disposição dos melhoristas. A falta do conhecimento das bases genéticas da resistência aos nematoides, como a grande dificuldade em selecionar material resistente — e não simplesmente tolerante — tem sido um obstáculo de difícil superação. Selecionar para resistência aos nematoides a campo, em condições de infestação natural, é ineficiente, por conta de o inóculo naturalmente presente no solo ser distribuído de forma desigual, havendo assim a possibilidade de

ocorrerem “escapas”, ou seja, plantas que não foram expostas ao patógeno. Em vez disso, a seleção operada em condições controladas é muito mais precisa, mas extremamente trabalhosa. Plantas semeadas em casa de vegetação ou em telado devem ser individualmente inoculadas e avaliadas, o que impede o uso generalizado e em grande escala dessas metodologias de seleção.

Nos últimos anos, novas ferramentas baseadas em análise do DNA foram desenvolvidas para contornar essas limitações, em particular no caso de caracteres de difícil avaliação fenotípica, como é o caso da resistência aos nematoides. Diferenças nas sequências do DNA de plantas individuais refletem diferenças no comportamento — resistência ou suscetibilidade a uma doença ou patógeno — dessas plantas. Uma vez que uma alteração na sequência do DNA, ou polimorfismo, pode ser associada a uma modificação do caráter, será possível selecionar plantas no genótipo — a sequência do DNA — e não mais no fenótipo — a expressão do caráter. Os chamados marcadores moleculares permitem detectar e revelar de forma simples o polimorfismo entre individuais, e, portanto, podem ser utilizados para prever o comportamento destes. Assim, um marcador molecular associado à resistência a uma doença ou aos nematoides pode ser utilizado para selecionar material resistente sem necessidade de avaliação fenotípica. A seleção assistida por marcadores (SAM) refere-se a metodologias de seleção baseadas na detecção de polimorfismos na sequência de DNA que expliquem variações na expressão dos caracteres.

Diversas técnicas, ou tipo de marcadores moleculares, têm sido desenvolvidas para revelar os polimorfismos de sequência e são utilizadas em rotina na seleção assistida por marcadores. Os microssatélites, ou marcadores SSR (do inglês *Simple Sequence Repeat*) (*Figura 1*), são sequências simples repetidas, presentes no genoma das plantas. O polimorfismo entre dois indivíduos se dá pelo número diferente de repetições presentes nestes. Nesse caso, o tamanho (número de bases) de um alelo pode ser associado à resistência (188 pares de bases, no exemplo da *Figura 1*), enquanto que o alelo associado à suscetibilidade apresenta tamanho diferente (178 pares de bases, no exemplo da *Figura 1*). Selecionando os indivíduos que apresentam o alelo de 188 pares de bases, é possível selecionar plantas que serão resistentes à doença a que o marcador SSR está associado.

**Figura 1.** Exemplo de detecção de polimorfismo com o uso de um marcador do tipo SSR. Cada conjunto de picos representa o tamanho da sequência repetitiva presente. A - Amostras heterozigotas, ainda em processo de segregação com ambos os alelos (178 e 188bp). B - Amostras com um alelo específico (188bp), que poderia estar ligado à resistência. C - Amostra que apresenta um segundo alelo (178bp), que poderia ser de suscetibilidade.



**Figura 2.** Exemplo de detecção de polimorfismo com o uso de um marcador SNP. Os grupos de pontos representam alelos diferentes. Amostras em vermelho (A) indicam um alelo específico, que poderia estar ligado à resistência. Em azul (C), as que apresentam um segundo alelo, que poderia estar ligado à suscetibilidade. Por fim, as amostras em verde (B) correspondem a plantas heterozigotas, ainda em processo de segregação.

O segundo tipo de marcador comumente utilizado na SAM é o SNP (do inglês *Single Nucleotide Polymorphism*) (*Figura 2*). Os SNPs são polimorfismos de base única presentes naturalmente nas sequências de DNA. Essas modificações de sequência podem ser responsáveis por determinado caráter, ou simplesmente associados a ele. Em ambos os casos, a presença de uma base particular em uma localização particular da sequência de DNA pode ser usada para prever o comportamento (resistente — pontos em vermelho, ou suscetível — pontos em azul na *Figura 2*) frente a uma doença ou patógeno.

Marcadores moleculares são herdáveis, o que permite, no caso de caracteres de controle genético simples, inferir quais indivíduos de uma descendência expressarão o caráter desejado. Além disso, a seleção baseada no DNA oferece numerosas vantagens quando comparada à seleção fenotípica. A principal é sua independência em relação a fatores ambientais e externos. Dessa forma, não é preciso inocular as plantas com o organismo causador de uma doença para selecionar as plantas resistentes. Da mesma forma, as resistentes podem ser selecionadas em qualquer estágio de crescimento; inclusive sementes podem ser selecionadas antes de serem semeadas. Dessa forma, a implantação da seleção assistida por marcadores permite maior precisão e economia de tempo.

Outra vantagem desse procedimento é a possibilidade de selecionar material para diversos caracteres (resistência a diversas doenças e patógenos) simultaneamente. Assim, em apenas uma análise molecular, é possível selecionar plantas resistentes ao nematoide-das-galhas, ao nematoide reniforme e a diversas doenças, como a doença azul e a mancha angular — sem necessidade de inocular ou desafiar as plantas a serem testadas com os patógenos causadores das doenças. Finalmente, o uso de marcadores moleculares para seleção, em particular o uso dos marcadores SNP, permite selecionar material rapidamente e com precisão em escala impossível de alcançar com a seleção fenotípica. Milhares de pontos de genotipagem — cada um correspondente à avaliação de um indivíduo para a reação de resistência/suscetibilidade a uma determinada doença ou a um determinado patógeno — podem ser gerados em pouco tempo.

É por todas essas razões que a seleção assistida por marcadores tem sido incorporada de forma rotineira aos programas de

melhoramento. Anteriormente reservada a poucas empresas capazes de financiar e montar infraestruturas onerosas, a seleção assistida por marcadores “democratizou-se” nos últimos anos por conta da diminuição dos custos envolvidos.

#### **4. Identificação de marcadores moleculares associados à resistência aos nematoides em algodoeiro**

Um dos pré-requisitos importantes para que os marcadores moleculares sejam utilizados com eficiência nos programas de melhoramento é eles estarem intimamente associados ao fenótipo de resistência. A associação entre a presença do alelo de resistência no *locus* marcador (188 pares de bases na *Figura 1*; ponto vermelho na *Figura 2*) e o fenótipo de resistência tem de ser perfeita, mesmo quando se trabalha com grandes populações. A falta dessa associação pode resultar na seleção de “falsos positivos”, indivíduos apresentando o alelo de resistência para o marcador, mas demonstrando suscetibilidade ao patógeno.

Por conta da grande dificuldade em selecionar material resistente a nematoides por meio da seleção fenotípica, diversos trabalhos tiveram como objetivo a identificação de marcadores moleculares associados à resistência ao nematoide-das-galhas e ao nematoide reniforme.

##### **4.1 Marcadores moleculares associados à resistência ao nematoide-das-galhas**

A primeira fonte de altos níveis de resistência ao nematoide-das-galhas identificada foi o acesso Auburn 623 RNR (Shepherd, 1974; Robinson *et al.*, 2001). Ainda hoje, ela é usada nos programas de melhoramento visando resistência a *M. incognita*; elucidou-se a herança da resistência nesse acesso. Tal herança é condicionada por dois genes de efeito principal, um dominante e outro com efeito aditivo (McPherson *et al.*, 1995). A resistência foi transmitida facilmente às linhagens derivadas de Auburn 623 RKN, como M-315 RNR, M19-RNR, M25-RNR, M75-RNR, M78RNR, M188-RNR e M487-RNR. Esses dois genes foram nomeados Mi1 (dominante) e Mi2 (aditivo) (McPherson *et al.*, 2004). Vários tra-



balhos subsequentes usando germoplasma derivado de Auburn 623 RNR chegaram às mesmas conclusões (Zhou *et al.*, 1999; Ynturi *et al.*, 2006); adicionalmente, Ynturi *et al.* (2006) relataram que ao menos um gene localizado no cromossomo 11 e outro no cromossomo 14 estavam envolvidos na resistência.

Trabalhos conduzidos com uma fonte de resistência oriunda de Auburn 623 RNR, a linhagem M-120 RNR, relatam que o marcador SSR CIR316 está associado à resistência e localiza-se no cromossomo 11 (Shen *et al.*, 2006). Utilizando outra linhagem oriunda de Auburn 623 RNR, outros marcadores SSR também foram identificados tanto no cromossomo 11 (marcador BNL1231) quanto no cromossomo 14 (marcadores BNL3661, BNL3644 e BNL3545) (Ynturi *et al.*, 2006).

Ao usar a abordagem de linhagens endogâmicas recombinantes (RILs), a fonte de resistência Auburn 623 RNR, um dos seus genitores (Clevewilt 6), e uma cultivar suscetível (Stoneville 213), confirmou-se a associação do marcador CIR 316 com o gene de resistência localizado no cromossomo 11. O alelo CIR 316\_201 também foi encontrado em Clevewilt 6, e, nesse caso, a resistência ocorre por causa do menor número de galhas produzidas (Gutiérrez *et al.*, 2010). O segundo gene de resistência, localizado no cromossomo 14, está associado a dois marcadores tipo SSR, BNL3545-118 e BNL3661-185. Esses dois marcadores não estão presentes em Clevewilt 6, mas ocorrem em Wild Mexican Jack Jones, o outro genitor de Auburn 623 RNR. Esse segundo gene é responsável pela redução na produção de ovos por fêmeas do nematoide (Gutiérrez *et al.*, 2010; He *et al.*, 2014).

A identificação de marcadores moleculares associados à resistência para nematoide-das-galhas oriundos da fonte Auburn 623 RNR e linhagens derivadas e a confirmação da associação íntima entre os marcadores e o caráter de resistência constituem grande avanço para o melhoramento. Os marcadores permitiram não somente confirmar a natureza do controle genético da resistência e o efeito de cada um dos loci envolvidos na expressão da resistência, mas são, sobretudo, ferramentas preciosas para auxiliar o melhoramento visando a incorporação de altos níveis de resistência à *M. incognita* em material elite.

Os marcadores CIR 316, associado ao *locus* de resistência localizado no cromossomo 11, e BNL 3661, no cromossomo 14, são atualmente usados em rotina em diversos programas de melhoramento.

## 4.2 Marcadores moleculares associados à resistência ao nematoide reniforme

O desenvolvimento de material elite com resistência ao nematoide reniforme é dificultado por não haver fontes de resistência em acessos de algodoeiro herbáceo. Os primeiros trabalhos visando incorporar resistência ao nematoide reniforme valeram-se do acesso silvestre diploide *G. longicalyx* como doador de resistência (Robinson *et al.*, 2007; Bell *et al.*, 2014). Os marcadores moleculares SSR BNL 3279\_114, BNL1066\_156 e BNL836\_215, localizados no cromossomo 11 e associados ao gene de resistência  $Ren^{lon}$ , responsável pelo alto nível de resistência, foram identificados (Dighe *et al.*, 2009) e utilizados para facilitar a introgressão da resistência pelo processo de retrocruzamento. As linhagens resultantes, LONREN-1 e LONREN-2 (Bell *et al.*, 2014), apresentaram rendimento e qualidade de fibra muito semelhantes ao parental Fibermax 958, com o adicional de redução da população de nematoide reniforme na taxa de 50-90% em ensaios a campo. No entanto, com frequência, essas mesmas linhagens também apresentaram nanismo e perda na produtividade; essa fonte de resistência foi abandonada pela maioria dos programas de melhoramento.

Mais recentemente, foram desenvolvidos marcadores moleculares associados à resistência ao nematoide reniforme oriunda do acesso de *G. barbadense* GB 713 (Gutiérrez *et al.*, 2011). A resistência do acesso GB 713, que deu origem à linhagem BARBREN 713 (Bell *et al.*, 2015), está associada a três QTLs, dois no cromossomo 21 e um QTL no cromossomo 18, nomeados  $Ren^{barb1}$ ,  $Ren^{barb2}$  e  $Ren^{barb3}$ , respectivamente (Gutiérrez *et al.*, 2011). Os marcadores SSR BNL1551\_162 e GH 132\_199 estão associados a  $Ren^{barb1}$ , BNL4011\_155 e BNL 3279\_106 associados a  $Ren^{barb2}$  e BNL 1721\_178 e BNL 569\_131, associados a  $Ren^{barb3}$  (Gutiérrez *et al.*, 2011). Na linhagem BARBREN 713, para a seleção assistida por marcadores para o gene  $Ren2GB713$ , localizado no cromossomo 21 ( $Ren^{barb2}$ ), além do marcador tipo SSR BNL 3279\_106, também foi desenvolvido o marcador tipo SNP GI-187401 (Bell *et al.*, 2015).

Com a identificação dessa fonte de resistência ao nematoide reniforme e o desenvolvimento de marcadores SSR e SNP utilizáveis para auxiliar a introgressão da resistência, espera-se que variedades melhoradas sejam postas à disposição em futuro próximo.

## 5. Considerações finais

Pelas particularidades das condições ambientais a que está sujeita a cultura algodoeira brasileira, o melhoramento genético do algodoeiro — e particularmente aquele visando resistência a patógenos e pragas — vem tendo grande importância. Para algumas doenças de alta relevância, obtiveram-se avanços importantes por meio do melhoramento “clássico”. Todavia, no caso da resistência a *M. incognita* e *R. reniformis*, os principais nematoides responsáveis por danos e perdas econômicas à cultura algodoeira, os avanços foram mais lentos. A falta de fontes de altos níveis de resistência ou do conhecimento das bases genéticas da resistência e, sobretudo, a dificuldade em selecionar material resistente com precisão e em escala suficiente são dificuldades.

A disponibilização recente de marcadores moleculares associados à resistência presentes nas principais fontes de resistência aos nematoides-das-galhas e aos reniformes constitui poderosa ferramenta que permitirá superar as dificuldades. Enquanto a seleção clássica apresenta grandes dificuldades em explorar o alto nível de resistência ao nematoide-das-galhas identificado no acesso Auburn 623 RNR desde 1974 (Shepherd, 1974), o uso de marcadores moleculares tem sido fundamental no desenvolvimento de linhagens melhoradas com altos níveis de resistência (GA 120R1B3) (Davis *et al.*, 2011). Da mesma forma, a seleção assistida por marcadores permitiu desenvolver a linhagem BAR-BREN-713, material com resistência ao nematoide-das-galhas e ao nematoide reniforme (Bell *et al.*, 2015).

Hoje em dia, os marcadores moleculares estão sendo incorporados à rotina por muitos programas de melhoramento, com grandes benefícios. Entretanto, o potencial dos marcadores somente será alcançado se essa tecnologia estiver associada a esforços aplicados ao melhoramento clássico e na identificação e na caracterização de novas fontes de genes ou loci a serem futuramente incorporados aos programas de melhoramento.

## Referências

AVILA, C. A.; STEWART, J. M.; ROBBINS, R. T. Transfer of reniform nematode resistance from diploid cotton species to tetraploid cultivated cotton. in: Proceedings of the Beltwide Cotton Conferences, Nova Orleans, Estados Unidos, 4-7 January 2005. (**Abstr.**), 2005. p.182.

BELL, A. A.; ROBINSON, A. F.; QUINTANA, J.; DIGHE, N. D.; MENZ, M. A.; STELLY, D. M.; ZHENG X.; JONES, J. E.; OVERSTREET, C.; BURRIS, E.; CANTRELL, R. G.; NICHOLS, R. L. Registration of LONREN-1 and LONREN-2 germplasm lines of Upland cotton resistant to reniform nematode. **Journal of Plant Registrations**, 8:187-190, 2014.

BELL, A. A.; ROBINSON, A. F.; QUINTANA, J.; DUKE, S. E.; STARR, J. L.; STELLY, D. M.; ZHENG X.; PROM, S.; SALADINO, V.; GUTIÉRREZ, O. A.; STETINA, S. R.; NICHOLS, R. L. Registration of BARBREN-713 germplasm line of Upland cotton resistant to reniform and root-knot nematodes. **Journal of Plant Registrations**, 9:89-93, 2015.

DAVIS, R. F.; CHEE, P. W.; LUBBERS, E. L.; MAY, O. L. Registration of GA 120R1B3 germplasm line of cotton. **Journal of Plant Registrations**, 5:384-387, 2011.

DIGHE, N. D.; ROBINSON, A. F.; BELL, A. A.; MENZ, M. A.; CANTRELL, R. G.; STELLY, D. M. Linkage mapping of resistance to reniform nematode in cotton following introgression from *Gossypium longicalyx*. **Crop Science**, 49:1151-1164, 2009.

ERPELDING, J. E.; STETINA, S. R. Genetics of reniform nematode resistance in *Gossypium arboreum* germplasm line PI 529728. **World Journal of Agricultural Research**, 1:48-53, 2013.

GRIDI-PAPP, I. L.; FUZATTO, M. G.; CAVALERI, P. A.; CIA, E.; SILVA, N. M.; FERRAZ, C. A. M.; SCHMIDT, W.; NEVES, O. S.; RODRIGUES FILHO, F. S. O.; CHIAVEGATO, E. J.; SABINO, N. P.; MARTINELLI, E. S.; LAZZARINI, J. F.; CORRÊA, F. A.; GROSSI, J. M. M. Melhoramento do algodoeiro no Estado de São Paulo: obtenção das variedades IAC RM3, IAC RM4, IAC 16 e IAC 17. **Bragantia**, 43(2), 405-423, 1984.

GUTIÉRREZ, O. A.; JENKINS, J. N.; McCARTY, J. C.; WUBBEN, M. J.; HAYES, R. W.; CALLAHAN, F. E. SSR markers closely associated with genes for resistance to root-knot nematode on chromosomes 11 and 14 of Upland cotton. **Theoretical and Applied Genetics**, 121:1323-1337, 2010.

GUTIÉRREZ, O. A.; ROBINSON, A. F.; JENKINS, J. N.; McCARTY, J. C.; WUBBEN, M. J.; CALLAHAN, F. E.; NICHOLS, R. L. Identification of QTL

regions and SSR markers associated with resistance to reniform nematode in *Gossypium barbadense* L. accession GB713. **Theoretical and Applied Genetics**, 122:271-280, 2011.

HE Y.; KUMAR, P.; SHEN X.; DAVIS, R. F.; VAN BECELAERE, G.; MAY, O. L.; NICHOLS, R. L.; CHEE, P. W. Re-evaluation of the inheritance for root-knot nematode resistance in the Upland cotton germplasm line M-120 RNR revealed two epistatic QTLs conferring resistance. **Theoretical and Applied Genetics**, 127:1343-1351, 2014.

KOENNING, S. R.; BARKER, K. R.; BOWMAN, D. T. Resistance as a tactic for management of *Meloidogyne incognita* on cotton in North Carolina. **Journal of Nematology**, 33:126-131, 2001.

McPHERSON, M. G.; JENKINS, J. N.; McCARTY, J. C.; WATSON, C. E. Combining ability analysis of root-knot nematode resistance in cotton. **Crop Science**, 35:373-375, 1995.

McPHERSON, G.R.; JENKINS, J.N.; WATSON, C.E.; McCARTY JR, J.C. Inheritance of root-knot nematode resistance in M-315 RNR and M78-RNR cotton. **Journal of Cotton Science**, 8:154-161, 2004.

MOTA, F. C.; ALVES, G. C. S.; GIBAND, M.; GOMES, A. C. M. M.; SOUSA, F. R.; MATTOS, V. S.; BARBOSA, V. H. S.; BARROSA, P. A. V.; NICOLE, M.; PEIXOTO, J. R.; ROCHA, M. R.; CARNIERO, R. M. D. G. New sources of resistance to *Meloidogyne incognita* race 3 in wild cotton accessions and histological characterization of the defence mechanisms. **Plant Pathology**, 62:1173-1183, 2013.

ROBINSON, A. F.; PERCIVAL, A. E. Resistance to *Meloidogyne incognita* race 3 and *Rotylenchulus reniformis* in wild accessions of *Gossypium hirsutum* and *G. barbadense* from Mexico. **Journal of Nematology**, 29:746-755, 1997.

ROBINSON, A. F.; BOWMAN, D. T.; COOK, C. G.; JENKINS, J. N.; JONES, J. E.; MAY, L. O.; OAKLY, S. R.; OLIVER, M. J.; ROBERTS, P. A.; ROBINSON, M.; SMITH, C. W.; STARR, J. L.; STEWART, J. M. Nematode resistance. In: T. L. Kirkpatrick e C. S. Rothrock (eds). **Compendium of Cotton Diseases**, 2nd Ed. The American Phytopathological Society: St. Paul, Estados Unidos, 2001. p. 68-72.

ROBINSON, A. F.; BRIDGES, A. C.; PERCIVAL, A. E. New sources of resistance to the reniform (*Rotylenchulus reniformis*) and root-knot (*Meloidogyne incognita*) nematode in upland (*Gossypium hirsutum*) and sea island (*G. barbadense*) cotton. **Journal of Cotton Science**, 8:191-197, 2004.

ROBINSON, A. F.; BELL, A. A.; DIGHE, N. D.; MENZ, M. A.; NICHOLS, R. L.; STELLY, D. M. Introgression of resistance to nematode *Rotylenchulus reniformis* into upland cotton (*Gossypium hirsutum*) from *Gossypium longicalyx*. **Crop Science**, 47:1865-1877, 2007.

SACKS, E. J.; ROBINSON, A. F. Introgression of resistance to reniform nematode (*Rotylenchulus reniformis*) into upland cotton (*Gossypium hirsutum*) from *Gossypium arboreum* and a *Gossypium hirsutum*/*Gossypium aridum* bridging line. **Field Crops Research**, 112:1-6, 2009.

SHEN X. L.; VAN BECELAERE, G.; KUMAR, P.; DAVIS, R. F.; MAY, O. L.; CHEE, P. W. QTL mapping for resistance to root-knot nematodes in the M-120 RNR Upland cotton line (*Gossypium hirsutum* L.) of the Auburn 623 RNR source. **Theoretical and Applied Genetics**, 113:1539-1549, 2006.

SHEPHERD, R. L. Registration of Auburn 623 RNR cotton germplasm (Reg. no. GP20). **Crop Science**, 46:911, 1974.

SHEPHERD, R. L. Registration of three germplasm lines of cotton (reg. nos. GP 164 to GP 166). **Crop Science**, 22:692, 1982.

SIKKENS, R. B.; WEAVER, D. B.; LAWRENCE, K. S.; MOORE, S. R.; VAN SANTEN, E. LONREN Upland cotton germplasm response to *Rotylenchulus reniformis* inoculum level. **Nematropica**, 41:68-74, 2011.

STARR, J. L.; MORESCO, E. R.; SMITH, C. W.; NICHOLS, R. L.; ROBERTS, P. A.; CHEE, P. Inheritance of resistance to *Meloidogyne incognita* in primitive cotton accessions from Mexico. **Journal of Nematology**, 42:352-358, 2010.

YIK, C.-P.; BIRCHFIELD, W. Resistant germplasm in *Gossypium* species and related plants to *Rotylenchulus reniformis*. **Journal of Nematology**, 16:146-153, 1984.

YNTURI, P.; JENKINS, J. N.; McCARTY, J. C.; GUTIÉRREZ, O. A.; SAHA, S. Association of root-knot nematode resistance genes with simple sequence repeat markers on two chromosomes in cotton. **Crop Science**, 46:2670-2674, 2006.

ZHOU E.; STARR, J.L.; SMITH, C.W. Inheritance of resistance to *Meloidogyne incognita* in cotton cultivar Acala NemX. **Journal of Nematology**, 31: 584-585, 1999.