

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

OLIVIA DIULEN COSTA BRITO

**Atividade nematicida e indução de resistência em tomateiro Micro-Tom contra
Meloidogyne spp. por frações proteicas de *Pycnopus sanguineus***

MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ

2022

**Atividade nematicida e indução de resistência em tomateiro Micro-Tom contra
Meloidogyne spp. por frações proteicas de *Pycnopus sanguineus***

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia para a obtenção do título de Doctor Scientiae.

Orientador: José Renato Stangarlin

MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ

2022

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Costa Brito, Olivia Diulen

Atividade nematicida e indução de resistência em tomateiro Micro-Tom contra *Meloidogyne* spp. por frações proteicas de *Pycnopus sanguineus* / Olivia Diulen Costa Brito; orientador José Renato Stangarlin. -- Marechal Cândido Rondon, 2022.

74 p.

Tese (Doutorado Campus de Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2022.

1. Indução de Resistência. 2. Nematoides. 3. *Meloidogyne* .
4. *Pycnopus sanguineus*. I. Stangarlin, José Renato ,
orient. II. Título.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO

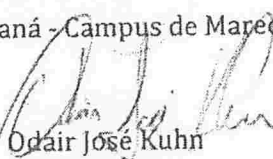
OLIVIA DIULEN COSTA BRITO

Atividade nematocida e indução de resistência em tomateiro Micro-Tom contra *Meloidogyne* spp. por frações proteicas de *Pycnoporus sanguineus*


Tese apresentada à distância, de forma síncrona e por videoconferência, conforme Resolução nº 052/2020 – CEPE, ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Fitossanidade e Controle Alternativo, APROVADA pela seguinte banca examinadora:


Orientador - José Renato Stangarlin

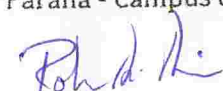
Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)


Odair José Kuhn


Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)


Márcia de Moraes Echer

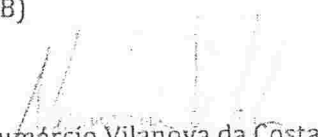
Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)


Robson Marcelo Di Piero

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)


Thaisa Muriel Mioranza

Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB)


Neumárcio Vilanova da Costa
Coordenador Especial do Programa de Pós-Graduação em Agronomia

Marechal Cândido Rondon, 31 de março de 2022

DEDICATÓRIA

“Ouça, meu filho, a instrução de seu pai e
não despreze o ensino de sua mãe.
Eles serão um enfeite para a sua cabeça,
um adorno para o seu pescoço.”
(Provérbios 1:8-9)
Aos meus pais, Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me guiado e me amparado durante toda minha trajetória, por ter me cercado de pessoas boas, por ter me dado oportunidades e força para enfrentar as dificuldades.

A minha família, por sempre me incentivarem, em especial meu pai Moacir, minha mãe Otília e minha irmã Hulle, por serem minha base, meu ponto de referência, por me ensinarem a ter fé, sem o amor e apoio de vocês eu não teria chego até aqui. Vocês são a personificação do amor.

Aos meus amigos Isabela Hernandez, Giovana Carmanhães e Alexandre Calvi, que mesmo longe sempre estiveram presentes me incentivando, apoiando e razando por mim.

Aos meus amigos e colegas Bruna Shons, Juliana Fujimoto, Roberto Ceccato, Jeferson Carvalho, Shayda Muniz, Marta Bianchini, Danielle Mattei, Eloisa Lorenzetti, Tatiane da Mata, Diego Borges e Anderson Suss pelo auxílio nas análises e condução dos ensaios experimentais, pelos grupos de estudo, pela companhia em análises noturnas ou em finais de semana, por trazerem alegria e leveza para os meus dias.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Renato Stangarlin, que me acolheu como sua orientada, agradeço por tudo que me ensinou na área acadêmica e na vida, agradeço o apoio para o seguimento das pesquisas, com seu jeito sereno e iluminado trouxe paz e conforto em momentos de desespero.

Ao prof. Dr. Odair José kuhn, que por vezes esclareceu dúvidas e me ensinou sobre metodologias, agradeço também as palavras de incentivo e apoio, em especial no dia da minha qualificação, foi muito importante para mim.

Aos professores e funcionários da Unioeste, por serem sempre prestativos e atenciosos.

A Unioeste e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade de cursar um programa de doutorado e pela excelente receptividade de toda a equipe.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela disponibilização da bolsa de doutorado.

Muito obrigada!

BRITO, Olivia Diulen Costa. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, março de 2022. **Atividade nematicida e indução de resistência em tomateiro Micro-Tom contra *Meloidogyne* spp. por frações proteicas de *Pycnoporus sanguineus***

Orientador: Prof. Dr. José Renato Stangarlin.

Os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) são patógenos limitantes na produção agrícola de diversas culturas de importância econômica. O uso de indutores de resistência pode ser mais uma alternativa para o manejo destes parasitas, face à dificuldade de seu controle. O fungo basidiomiceto *Pycnoporus sanguineus* tem apresentado resultados promissores para indução de resistência em vários patossistemas, contudo, é pouco conhecido seus efeitos em interações planta-nematoide. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi obter frações proteicas do extrato aquoso de *P. sanguineus* por cromatografia de filtração em gel (CFG) para indução de resistência em tomateiro MicroTom contra *Meloidogyne* spp. A partir do extrato aquoso de basidiocarpos, foi feita a precipitação proteica com gradiente crescente de etanol de 20%, 40%, 60%, 80% e 95%, os quais foram individualmente centrifugados. Em seguida, cada precipitado proteico (ou corte etanólico) foi fracionado utilizando CFG, sendo os picos proteicos separados e identificados pela massa molecular. Cada precipitado proteico, bem como as proteínas isoladas foram testadas para atividades nematicida e nematostática *in vitro* contra *M. incognita* e *M. javanica*, avaliando-se motilidade e mortalidade. Para os ensaios de indução de resistência, mudas de tomateiro MicroTom tiveram seu sistema radicular imerso por 10 segundos em cada tratamento, e após três dias do transplante, as mudas foram inoculadas com 1.000 ovos de cada nematoide. O ensaio foi conduzido em câmara de crescimento com fotoperíodo de 12 horas de luz a 26 °C, e após 45 dias foram avaliados número de galhas e número de ovos e de juvenis de segundo estágio (J2) na raiz, e calculado o fator de reprodução. Amostras de raiz também foram coletadas no tempo para análise das enzimas de defesa peroxidase (POX), polifenoloxidase (POL) e fenilalanina amônia-liase (FAL) envolvidas na indução de resistência. Foram obtidas seis frações proteicas por CFG, identificadas como I, II, III, IV, V e VI, com massas moleculares de 4,81; 47,98; 0,17; 25,78; 4,25 e 4 KDa respectivamente. *In vitro*, apenas o extrato aquoso não fracionado e os cortes etanólicos 95% para *M. javanica* e 40%, 60%, 80% e 95% para *M. incognita* proporcionaram mortalidade e imobilidade dos nematoides, enquanto as frações proteicas não tiveram efeito nematicida/nematostático. Nos ensaios de indução de resistência, o corte 60% e as frações de I a VI reduziram em até 58% o número de galhas e em até 41% o número de ovos + J2 por grama de raiz para *M. javanica*. Para *M. incognita* esses mesmos tratamentos favoreceram a infecção com incremento de até 59% no número de galhas. Quanto à atividade enzimática nas raízes, as frações proteicas II e V para *M. javanica* incrementaram em até quatro vezes a atividade de POX, mas reduziram a atividade de POL e não influenciaram a atividade de FAL, ao passo que a fração VI para *M. incognita* não teve nenhum efeito nas três enzimas estudadas. Dessa forma, basidiocarpos de *P. sanguineus* possuem frações proteicas capazes de reduzir a infecção de *M. javanica* em tomateiro MicroTom, o que pode ocorrer por indução de resistência envolvendo a atividade da enzima peroxidase.

Palavras-chave: controle alternativo, fitonematoides, eliciadores de resistência.

BRITO, Olivia Diulen Costa. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, March - 2022. **Obtention of protein fractions of *Pycnoporus sanguineus* by gel filtration chromatography for induction of resistance in tomato against *Meloidogyne* spp.** Advisor: PhD. José Renato Stangarlin.

The root-knot nematode (*Meloidogyne* sp.) is one of the limiting pathogens in the production of several crops of economic importance. The use of resistance inducers may be an option for the management of these parasites, since their control is very difficult. The basidiomycete fungus *Pycnoporus sanguineus* has shown promising results for inducing resistance in several pathosystems, however, its effects on plant-nematode interactions are poorly understood. Thus, the objective of this work was to obtain protein fractions from the aqueous extract of *P. sanguineus* by gel filtration chromatography (GFC) to induce resistance in MicroTom tomato plants against *Meloidogyne* spp. From the aqueous extract of basidiocarps, protein precipitation was performed with an increasing gradient of ethanol of 20%, 40%, 60%, 80% and 95%, which were individually centrifuged. Then, each protein precipitate (or ethanolic cut) was fractionated using CFG, and the protein peaks were separated and identified by molecular mass. Each protein precipitate as well as the isolated proteins were tested for nematicidal and nematostatic activity *in vitro* against *M. incognita* and *M. javanica*, evaluating motility and mortality. For resistance induction assays, MicroTom tomato seedlings had their root system immersed for 10 seconds in each treatment, and after three days of transplantation, seedlings were inoculated with 1,000 eggs of each nematode. The assay was carried out in a growth chamber with a photoperiod of 12 hours of light at 26 °C, and after 45 days the number of galls and number of eggs and number of second-stage juveniles (J2) in the root were evaluated, and the reproduction factor was calculated. Root samples were also collected in time for analysis of the defense enzymes peroxidase (POX), polyphenoloxidase (POL) and phenylalanine ammonia lyase (FAL) involved in the induction of resistance. Six protein fractions were obtained by CFG, identified as I, II, III, IV, V and VI, with molecular masses of 4.81; 47.98; 0.17; 25.78; 4.25 and 4 kDa respectively. *In vitro*, only the unfractionated aqueous extract and the ethanolic cuts 95% for *M. javanica* and 40%, 60%, 80% and 95% for *M. incognita* provided nematode mortality and immobility, while the protein fractions had no nematicide/nematostatic effects. In resistance induction tests, 60% ethanolic cut and fractions I to VI reduced the number of galls and the number of eggs + J2 per gram of root by up to 58% and 41%, respectively, for *M. javanica*, while for *M. incognita* these same treatments favored the infection with an increase of up to 59% in the number of galls. As for the enzymatic activity in the roots, protein fractions II and V for *M. javanica* increased four-folds POX activity, but reduced POL and did not influence FAL activity, while fraction VI for *M. incognita* had no effect on these three enzymes. Thus, *P. sanguineus* basidiocarps contain protein fractions capable of reducing *M. javanica* infection in MicroTom tomato plants, which can occur by inducing resistance involving the peroxidase enzyme.

Keywords: alternative control, phytonematodes, resistance elicitors.

Lista de Tabelas

- Tabela 1.** Teor de proteína dos cortes etanólicos obtidos de basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus* em gradientes crescentes de etanol. 23
- Tabela 2.** Frações proteicas obtidas por cromatografia de filtração em gel de cortes etanólicos do extrato aquoso de basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus*. 24
- Tabela 3.** Motilidade e mortalidade de *Meloidogyne javanica* na presença de extrato aquoso bruto (não fracionado), cortes etanólicos e frações proteicas de *Pycnoporus sanguineus*. 25
- Tabela 4.** Motilidade e mortalidade de *Meloidogyne incognita* na presença de extrato aquoso bruto (não fracionado), cortes etanólicos e frações proteicas de *Pycnoporus sanguineus*. 26
- Tabela 5.** Número de galhas, ovos + J2 (juvenis de segundo estágio) total por sistema radicular, ovos + J2 por grama de raiz e fator de reprodução (FR) em tomateiro MicroTom tratado com extrato aquoso bruto (não fracionado), cortes etanólicos e frações proteicas de *Pycnoporus sanguineus* e inoculado com *Meloidogyne javanica*. 27
- Tabela 6.** Massa fresca da parte aérea (MFA), massa seca da parte aérea (MSA) e massa fresca da raiz (MFR) de tomateiro MicroTom tratado com extrato aquoso bruto (não fracionado), cortes etanólicos e frações proteicas de *Pycnoporus sanguineus* e inoculado com *Meloidogyne javanica*. 28
- Tabela 7.** Número de galhas, ovos + J2 (juvenis de segundo estágio) total por sistema radicular, ovos + J2 por grama de raiz e fator de reprodução (FR) em tomateiro MicroTom tratado com extrato aquoso bruto (não fracionado), cortes etanólicos e frações proteicas de *Pycnoporus sanguineus* e inoculado com *Meloidogyne incognita*. 29
- Tabela 8.** Massa fresca da parte aérea (MFA), massa seca da parte aérea (MSA) e massa fresca da raiz (MFR) de tomateiro MicroTom tratado com extrato aquoso

bruto (não fracionado), cortes etanólicos e frações proteicas de *Pycnopus sanguineus* e inoculado com *Meloidogyne incognita*..... 30

Tabela 9. Número de massas de ovos, galhas, ovos + J2 (juvenis de segundo estágio) total por sistema radicular e ovos + J2 por grama de raiz em tomateiro MicroTom tratado com frações proteicas de *Pycnopus sanguineus* e inoculado com *Meloidogyne javanica*..... 31

Tabela 10. Massa fresca da parte aérea (MFA), massa seca da parte aérea (MSA) e massa fresca da raiz (MFR) de tomateiro MicroTom tratado com frações proteicas de *Pycnopus sanguineus* e inoculado com *Meloidogyne javanica*. 31

Tabela 11. Número de massas de ovos, galhas, ovos + J2 (juvenis de segundo estágio) total por sistema radicular e ovos + J2 por grama de raiz em tomateiro MicroTom tratado com fração proteica de *Pycnopus sanguineus* e inoculado com *Meloidogyne incognita*. 32

Tabela 12. Massa fresca da parte aérea (MFA), massa seca da parte aérea (MSA) e massa fresca da raiz (MFR) de tomateiro MicroTom tratado com fração proteica de *Pycnopus sanguineus* e inoculado com *Meloidogyne incognita*. 32

Lista de Figuras

Figura 1. Atividade das enzimas peroxidase (A) e polifenoloxidase (B) em raízes de tomateiro MicroTom tratadas com frações proteicas de *Pycnoporus sanguineus* e inoculadas com *Meloidogyne javanica*. O tratamento ocorreu no momento do transplante (tempo zero) através da imersão das raízes. A inoculação ocorreu três dias após os tratamentos. Testemunha (água): ●; fração proteica II: ■; fração proteica V: □. Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tempo não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)..... 34

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	DOENÇAS EM PLANTAS	3
2.2	NEMATOIDES	3
2.3	NEMATOIDE DAS GALHAS	5
2.4	CONTROLE DE NEMATOIDES	8
2.5	INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA	10
2.6	<i>Pycnopus sanguineus</i> NO CONTROLE DE DOENÇAS	14
2.7	MICROTOM COMO MODELO DE ESTUDO	15
3	MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1	POPULAÇÕES DE <i>M. incognita</i> E <i>M. javanica</i>	16
3.2	OBTENÇÃO DO EXTRATO DE <i>P. sanguineus</i> E PRECIPITAÇÃO PROTEICA	17
3.3	FRACIONAMENTO DO EXTRATO PROTEICO DE <i>P. sanguineus</i> UTILIZANDO CROMATOGRAFIA DE FILTRAÇÃO EM GEL (CFG)	18
3.4	ATIVIDADES NEMATICIDA E/OU NEMATOSTÁTICA <i>IN VITRO</i> DAS FRAÇÕES PROTEICAS DE <i>P. sanguineus</i> CONTRA <i>M. incognita</i> E <i>M. javanica</i>	19
3.5	INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM TOMATEIRO MICROTOM CONTRA <i>M. incognita</i> E <i>M. javanica</i>	19
3.5.1	ENSAIOS COM TODOS OS CORTES ETANÓLICOS E FRAÇÕES PROTEICAS	19
3.5.2	ENSAIOS COM FRAÇÕES PROTEICAS SELECIONADAS	20
3.6	ANÁLISES BIOQUÍMICAS	21
3.6.1	PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISES ENZIMÁTICAS	21
3.6.2	ATIVIDADE DE FENILALANINA AMÔNIA-LIASE (FAL)	22
3.6.3	ATIVIDADE DE POLIFENOLOXIDASE (PPO)	22
3.6.4	ATIVIDADE DE PEROXIDASE (POX)	23
4	RESULTADOS	23
4.1	CORTES ETANÓLICOS DOS EXTRATOS DE <i>P. sanguineus</i>	23
4.2	FRAÇÕES PROTEICAS OBTIDAS POR CFG A PARTIR DOS CORTES ETANÓLICOS DO EXTRATO DE <i>P. sanguineus</i>	24

4.3 ATIVIDADE NEMATICIDA E/OU NEMATOSTÁTICA <i>IN VITRO</i> DAS FRAÇÕES PROTEICAS DE <i>P. sanguineus</i> CONTRA <i>M. incognita</i> E <i>M. javanica</i>	25
4.4 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DAS FRAÇÕES PROTEICAS DE <i>P. sanguineus</i> EM TOMATEIRO MICROTOM CONTRA <i>M. incognita</i> E <i>M. javanica</i>	27
4.4.1 Ensaio com todos os cortes etanólicos e frações proteicas	27
4.4.2 Ensaio com frações selecionadas	31
4.5 MECANISMOS DE DEFESA ENVOLVIDOS NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DAS FRAÇÕES PROTEICAS SELECIONADAS DE <i>P. sanguineus</i> EM TOMATEIRO MICROTOM CONTRA <i>M. incognita</i> E <i>M. javanica</i>	32
5. DISCUSSÃO	34
6. CONCLUSÕES	39
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

1 INTRODUÇÃO

Os nematoides das galhas, *Meloidogyne* spp., estão distribuídos por todo o mundo e infectam raízes de milhares de espécies de plantas. Este gênero tem mais de 90 espécies descritas, sendo que *M. incognita*, *M. javanica*, *M. hapla* e *M. arenaria* são as mais comuns e amplamente distribuídas (PINHEIRO, 2017). Estes nematoides causam prejuízos em diversas culturas, e seu controle é complexo pois após se instalarem na área é praticamente impossível sua erradicação, sendo necessário a associação de diversas técnicas de manejo para se obter um controle eficiente (MACHADO, 2015).

Com a expansão da agricultura e a busca crescente por maior produção, tem-se observado aumento no uso de nematicidas, que pode ser aplicado no sulco de semeadura ou por tratamento de sementes (MACHADO, 2015), no entanto, o uso constante de nematicidas pode causar impactos ambientais. Além disso, a eficiência dos nematicidas para controle dos nematoides das galhas é limitada pelo fato deste patógeno permanecer no interior das raízes durante a maior parte do seu ciclo (SALGADO et al., 2007).

Desta forma, o uso de indutores de resistência mostra-se uma alternativa viável para o controle de nematoides, com baixo ou nenhum impacto ambiental (CAETANO, 2011). A indução de resistência baseia-se em aumentar a capacidade de defesa das plantas contra fitopatógenos, através da ativação de mecanismos de defesa que pode ocorrer pelo tratamento com agentes bióticos ou abióticos (PASCHOLATI; Leite, 1995).

Dentre os agentes bióticos, tem-se os extratos de fungos basidiomicetos como *Pycnoporus sanguineus*, que têm apresentado resultados promissores em diversos patossistemas, sendo observada a capacidade de indução de enzimas de defesa vegetal como fenilalanina amônia-liase, β -1,3 glucanase, peroxidase e polifenoloxidase, bem como de espécies reativas de oxigênio (VIECELLI et al., 2009; 2010; TOILLIER et al., 2010; BALDO et al., 2011).

Os extratos de fungos contêm diversas substâncias, no entanto, para caracterização de molécula com efeito indutor, se faz necessária a purificação do eliciador. Uma das formas de purificação é a cromatografia líquida de baixa pressão também conhecida como cromatografia de filtração em gel, que é um método físico-

químico de separação de moléculas (COLLINS, 2006), como proteínas, glicoproteínas, ácidos nucléicos e polissacarídeos (YU et al., 2006).

Este trabalho teve como objetivo obter frações proteicas de basidiocarpos de *P. sanguineus* por meio da cromatografia líquida de baixa pressão, a fim de testar e selecionar estas frações quanto à sua atividade nematicida e seu potencial para indução de resistência contra *Meloidogyne* spp. em tomateiro Micro-Tom.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 DOENÇAS EM PLANTAS

Segundo a definição de Agrios (2005), “Doença é o mal funcionamento de células e tecidos do hospedeiro que resulta da sua contínua irritação por um agente patogênico ou fator ambiental e que conduz ao desenvolvimento de sintomas. Doença é uma condição envolvendo mudanças anormais na forma, fisiologia, integridade ou comportamento da planta. Tais mudanças podem resultar em dano parcial ou morte da planta ou de suas partes”.

De acordo com esta definição, as doenças podem bióticas quando causadas por agentes infecciosos, ou abiótica causada por condições desfavoráveis do ambiente e de natureza não infecciosa. Dessa forma, anomalias fisiológicas causadas por deficiência ou desequilíbrio nutricional devido a solos de baixa fertilidade, temperaturas excessivamente altas ou baixas, déficit hídrico ou excesso de umidade, ausência ou excesso de luz, entre outros, está dentro do conceito de doenças não infecciosas, deste modo não transmitidas de uma planta doente para uma planta sadia (DOS SANTOS SOARES; MACHADO, 2007; FERRAZ, 2018)

Diferente dos agentes não infecciosos, as doenças causadas por agentes infecciosos podem ser transmitidas de uma planta doente para uma planta sadia. Dentre os agentes infecciosos estão os fungos, bactérias, vírus, protozoários e nematoides (CORREIA; MICHEREFF, 2018; MICHEREFF, 2001; FERRAZ, 2018), sendo este último o patógeno abordado por este estudo. No geral, os patógenos podem destruir ou causar distúrbios fisiológicos na célula parasitada, mas os distúrbios podem também ir além do local parasitado devido a substâncias produzidas pelos mesmos, os chamados fatores de patogenicidade como enzimas, toxinas e hormônios (MICHEREFF, 2001; FERRAZ, 2018).

2.2. NEMATOIDES

O nome nematoide deriva do grego *nematis* que quer dizer “em forma de fio”. Os nematoides são pertencentes ao filo Nematoda, onde são observadas duas classes (Chromadorea e Enoplea) (DE LEY; BLAXTER, 2002; FERRAZ, 2018). A maioria dos nematoides são de vida livre (alimentando-se de bactérias, fungos,

protozoários, algas, anelídeos oligoquetas ou outros nematoides). Entretanto, alguns nematoides são parasitas de plantas ou animais. O parasitismo de plantas ocorre principalmente em órgãos subterrâneos, como raízes, tubérculos, bulbos, rizomas e frutos hipógeos, porém, alguns se especializaram em parasitar a parte aérea das plantas (caules, folhas, flores, frutos e sementes) (FERRAZ, 2018; FERRAZ; BROWN, 2016).

Os nematoides de plantas ou fitonematoides têm formato vermiforme, também chamado de filiforme, mas algumas fêmeas podem ter a largura do corpo notavelmente aumentada para produção de ovos, resultando em forma de pera (*Meloidogyne* e *Globodera*), limão (*Heterodera*) e rim (*Rotylenchulus*). Nematoides com aumento exagerado do corpo são sedentários, enquanto os nematoides com forma filiforme durante todo o ciclo de vida são migradores (FERRAZ, 2018).

Os fitonematoides afetam negativamente a produtividade de diversas culturas. No mundo os prejuízos anuais chegam a US\$ 100 bilhões, aproximadamente 12% da produção de alimentos (SILVA et al., 2019). Há grande diversidade de gêneros e espécies de fitonematoides que causam danos em diversas culturas; a seguir estão os principais gêneros de importância para o Brasil.

O gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887, também conhecido como ‘nematóide das galhas’ tinha 96 espécies conhecidas até 2009, e diversas espécies que causam danos no Brasil (HUNT; HANDBOOK, 2009), sendo altamente polífago e um dos principais gêneros que atacam os tomateiros e importantíssimo para agricultura brasileira (PINHEIRO, 2017).

O segundo gênero em importância para o Brasil é *Pratylenchus* Filipjev, 1936, chamado de ‘nematóide das lesões radiculares’ (FERRAZ, 2018), e suas espécies parasitam diferentes culturas (CASTILLO; VOVLAS, 2007).

Para o gênero *Radophulus* Thorne, 1949, a espécie mais importante é *R. similis* (Cobb) Thorne, conhecido como ‘nematóide cavernícola’, grande problema sanitário na cultura da banana em todo o mundo (ALI et al., 2017).

O gênero *Heterodera* Schimidt, 1871, passou a ser de grande importância no Brasil a partir de 1992, quando houve os primeiros registros da espécie *H. glycines* Ichione, o ‘nematóide do cisto da soja’, que tem causado grande prejuízo na sojicultura brasileira (FERRAZ, 2018).

No Brasil, para o gênero *Rotylenchulus* Linford & Oliveira, 1940, se verificou a ocorrência apenas de *R. reniformis* o 'nematoide reniforme', que causa danos em diversas culturas, como o abacaxi, algodão, café, soja e feijão, entre outras, em diferentes regiões (LIRA et al., 2018).

O gênero *Tylenchulus* Cobb, 1913, com a espécie *T. semipenetrans* Cobb Linford & Oliveira, conhecido como 'nematoide dos citros', causa danos relevantes na cultura do citros em todo o mundo (STEFANELO; CARES, 2016).

2.3 NEMATOIDE DAS GALHAS

O gênero *Meloidogyne* pertence a classe Chromadorea, ordem Rhabditida, Subordem Tylenchina, Superfamília Tylenchoidea e família Meloidogynidae (DE LEY; BLAXTER, 2002; KARSSSEN; MOENS, 2006). Desde 1855, na Europa, havia relatos de plantas com sintomas de parasitismo por estes nematoides, no entanto, o gênero foi criado só em 1887 no Brasil, pelo zoólogo europeu Emilio A. Goeldi, com a espécie tipo *M. exigua* Goeldi (Ferraz, 2018).

No Brasil há relato de 20 espécies, que foram caracterizadas por métodos bioquímicos, por meio de esterase, e por métodos moleculares com uso de marcadores SCAR (HUNT; HANDOO, 2009, CARNEIRO et al., 2016).

As espécies com maior ocorrência e que causam grandes prejuízos são *M. javanica* (Treub) Chitwood, *M. incognita* (Kofoid e White) Chitwood, *M. arenaria* (Neal) Chitwood e *M. hapla* Chitwood, pois possuem ampla gama de hospedeiros e vasta distribuição geográfica, representando mais de 95% dos nematoides das galhas em solos cultivados no mundo (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991; TIHOHOD, 1993; PINHEIRO et al., 2014a; CARNEIRO et al., 2016), Estas espécies são encontradas em diversos tipos de solo, porém, são mais prejudiciais e mais severas em solos arenosos, com pouca matéria orgânica e clima quente (PINHEIRO et al., 2014b).

O ciclo de vida dos nematoides das galhas pode levar de três a seis semanas para se completar, dependendo da espécie e das condições ambientais (CASTAGNONE-SERENO et al., 2013), mas geralmente é de aproximadamente quatro semanas, com faixa de temperatura ótima para o desenvolvimento de 25 a 30 °C (FERRAZ, 2018). O ciclo compreende quatro estádios juvenis além dos estádios adultos, ou seja, o macho e a fêmea. Esta põe os ovos envoltos por uma matriz

gelatinosa. Essas etapas são separadas por ecdises, durante as quais a cutícula é recolocada (CASTAGNONE-SERENO et al., 2013).

Meloidogyne spp. inicia seu ciclo de vida com ovo, e a embriogênese se inicia horas depois da fêmea depositá-lo. O desenvolvimento embrionário origina o juvenil de primeiro estágio (J1), e ainda dentro do ovo o J1 passa pela primeira ecdise, originando o juvenil de segundo estágio (J2), a qual é a fase infectante de *Meloidogyne* (PERRY; MOENS; STARR, 2009). O J2 eclode do ovo e migra até o hospedeiro sendo direcionado por estímulos químicos por intermédio dos quimiorreceptores (os anfídios) (WILLIAMSON; HUSSEY, 1996; FERRAZ, 2018) e assim invadem a raiz na zona de alongamento. A penetração depende de força mecânica, através do estilete, e de ação química, através da liberação de enzimas via estilete, que são produzidas pelas glândulas esofagianas, e incluem pectato liase, celulases, expansinas, poligalacturonases, xilanases e endoglucanases (BOHLMANN; SOBCZAK, 2014).

A partir da zona de alongamento da raiz, o J2 migra intercelularmente, utilizando as enzimas para degradar a lamela média, indo em direção ao meristema apical da raiz. Ao atingirem o ápice radicular os J2 migram de volta para a porção central da raiz, deste modo o nematoide não atravessa a endoderme, mas a contorna (WYSS, GRUNDLER; MUNCH, 1992; HOLBEIN; GRUNDLER; SIDDIQUE, 2016). Tendo atingido o pró-cambio, o J2 introduz o estilete em algumas células vegetais e induz a formação de um sítio de alimentação permanente, tornando-se então sedentários (ABAD et al., 2003), uma característica exclusiva das fêmeas.

Dessa forma, após estabelecer a alimentação, o J2 passa por mudanças morfológicas e se torna sedentário, tendo mais três ecdises, formando os juvenis de terceiro e quarto estágio, que possuem o formato do corpo salsichoide e não se alimentam e, por fim, formam o adulto (CAILLAUD et al., 2008; PERRY; MOENS; STARR, 2009). As fêmeas adultas apresentam formato piriforme e aumento de tamanho, o que torna a fêmea sedentária e incapaz de migrar. Os machos, quando presentes, voltam a apresentar formato vermiforme e não se alimentam. O sexo é determinado pelas condições ambientais, e é possível observar os machos em condições de estresse, como alta população ou má nutrição da planta (TRANTAPHYLLOU, 1985; WILLIAMSON; HUSSEY, 1996).

Para iniciar a formação do sítio de alimentação, secreções da glândula esofágica são injetadas nas células da raiz por meio do estilete, induzindo uma transformação das células vegetais em células gigantes, multinucleadas e ativas que suprem as necessidades nutricionais do parasita, e cuja manutenção depende de estímulo contínuo por parte dos nematoides (WILLIAMSON; HUSSEY, 1996; CASTAGNONE-SERENO et al., 2013). A formação de células gigantes se origina de repetidas divisões nucleares da célula de alimentação inicial sem divisão celular (CAILLAUD et al., 2008).

Cada J2 desencadeia o desenvolvimento de cinco a sete células gigantes, que podem ser até 100 vezes maiores que as células normais do parênquima vascular da raiz, e conter até 100 núcleos. Também há maior quantidade de organelas citoplasmáticas, como mitocôndrias, plastídios e ribossomos, bem como um aparelho de Golgi bem desenvolvido e o retículo endoplasmático liso, em contrapartida, nestas células o vacúolo tem tamanho reduzido ou encontra-se ausente. Com a formação do sítio de alimentação ocorre espessamento e remodelação das paredes celulares (WILLIAMSON; HUSSEY, 1996; CASTAGNONE-SERENO et al., 2013) e, concomitante à formação de células gigantes, ocorre a hiperplasia e a hipertrofia das células, formando as galhas (MOENS et al., 2009), sintoma típico deste gênero de nematoide.

A reprodução é exclusivamente por partenogênese mitótica, para a maioria das espécies de nematoide das galhas estudadas até o momento. Nas espécies de grande importância agrícola, como *M. arenaria*, *M. incognita* e *M. javanica*, a reprodução envolve uma única divisão mitótica sem redução no número de cromossomos (TRANTAPHYLLOU, 1985; FERRAZ, 2018). Nessas espécies machos podem ser observados esporadicamente, sendo a definição do sexo controlada epigeneticamente (TRANTAPHYLLOU, 1981; BLANC-MATHIEU et al., 2017). Eles podem produzir esperma e acasalar com as fêmeas, porém, mesmo que o esperma possa ser eventualmente observado na espermateca feminina e o núcleo do esperma alcance o óvulo, foi relatado que o núcleo do espermatozoide se desintegra no citoplasma do óvulo durante ou logo após divisão mitótica e, deste modo, ao que parece, nunca se funde com o núcleo do óvulo (TRANTAPHYLLOU, 1981; CASTAGNONE-SERENO et al., 2013).

Como citado anteriormente, *Meloidogyne* spp., ao penetrarem na raiz, incitam a formação do sítio de alimentação, que leva a formação do sintoma tipo destes nematoides, as galhas, do qual o nematoide passa a depender para adquirir nutrientes por todo seu ciclo. A ação de parasitismo gera o dreno de nutrientes e fotoassimilados e privação do suprimento de água e nutrientes para a parte aérea da planta, que culminará em crescimento reduzido e deficiência nutricional, que são sintomas observados na forma de reboleira no campo (MELO et al., 2012; SIKORA et al., 2018).

2. 4 CONTROLE DE NEMATOIDES

Os principais métodos de manejo para o nematoide das galhas têm sido a rotação de culturas com plantas não hospedeiras ou antagonistas, o uso de cultivares resistentes quando disponíveis, e a utilização de nematicida, porém, estes últimos são tóxicos ao ambiente e ao homem (MACHADO, 2015).

Conforme dados do Agrofit (2021), para uso comercial no controle de *M. incognita* em tomateiro, há atualmente três produtos à base de abamectina (Abadin 72 EC com classe toxicológica (CT) 3 - Moderadamente Tóxico, Epimec com CT 4 - Produto pouco tóxico e Augory com CT 1 - Extremamente Tóxico) e um à base de *Allium sativum* (Vigga com CT 5 - Produto pouco provável de causar dano agudo). Para *M. javanica* há dois produtos registrados à base de abamectina (Abadin 72 EC e Epimec), um a base de metam-sódico (Bunema 330 SL com CT 4) e outro a base de fluensulfona (Nimitz EC com CT 5).

A rotação de culturas se baseia em alternar, dentro de uma mesma área cultivada, diferentes espécies vegetais ao longo de um determinado período de tempo (BOITEUX; PINHEIRO; FONSECA, 2019), sendo as plantas não hospedeiras ou antagonistas e cultivares resistentes os principais e mais efetivos métodos para o manejo de nematoides, eliminando parcial ou totalmente estes fitopatógenos, devido à ausência de alimento (PINHEIRO, 2017).

Plantas não hospedeiras, como amendoim (*Arachis* sp.), braquiárias (*Brachiaria* spp.), milheto [*Pennisetum glaucum* (L.) R. BR.], mamona (*Ricinus communis* L.) e cultivares de milho (*Zea mays* L.) são uma opção eficiente para o controle em área com *M. javanica* ou *M. incognita* (PINHEIRO, 2014; PINHEIRO; CASTRO; RAGASSI, 2019). As Brássicas também são eficientes na rotação de

culturas, pois possuem altos níveis de resistência, a exemplo da couve-chinesa (*Brassica rapa* L. subsp. *chinensis*), mostarda preta [*Brassica nigra* (L.) Kosh] e repolho (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) (RANDHAWA; SHARMA, 2008; MASHEVA et al, 2012; CURTO et al., 2016).

Plantas antagonistas podem permitir que os nematoides entrem nas raízes, mas não permitem que eles se desenvolvam até a fase adulta (PINHEIRO et al., 2014b). As crotalárias (*Crotalaria spectabilis* (Roth), *Crotalaria juncea* (L.)), cravo-de-defunto (*Tagetes patula* L., *Tagetes minuta* L., *Tagetes erecta* L.) e mucunas [*Mucuna aterrima* (Piper & Tracy) Holland] são exemplos de plantas que reduzem os níveis populacionais de nematoides devido ao antagonismo (MIAMOTO et al., 2021; NERIMAN; AŞKIN, 2018; FERREIRA et al., 2020; PINHEIRO; CASTRO; RAGASSI, 2019).

É importante a escolha adequada da planta não hospedeira ou antagonista para se utilizar na área infestada, pois o controle não é para todos os gêneros ou espécies de nematoides, a exemplo da mucuna-preta que é eficiente no controle de *M. incognita*, mas não tem efeito para *M. javanica* (PINHEIRO; CASTRO; RAGASSI, 2019).

Quanto a variedades resistentes ao nematoide das galhas, a maioria das cultivares comerciais são portadores do gene *Mi* (VERDEJO-LUCAS et al., 2012; BOITEUX; PINHEIRO; FONSECA, 2019). Este gene foi identificado no tomateiro selvagem *Solanum peruvianum* L. Mill. (PI 128657), que confere resistência a distintas populações/raças das espécies *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* (WATTS, 1947; GILBERT; McGUIRRE, 1956; VERDEJO-LUCAS et al., 2012; BOITEUX; PINHEIRO; FONSECA, 2019). Estes nematoides penetram em plantas suscetíveis ou com gene *Mi* do mesmo modo, porém, quando o J2 tenta estabelecer o sítio de alimentação na planta portadora do gene, ocorre a reação de hipersensibilidade, que é a morte das células próximas e no local da infecção (DROPKIN, 1969; BOITEUX; PINHEIRO; FONSECA, 2019).

As cultivares 'Débora Plus' e 'Débora VFN' (para mesa) e 'IPA-5' e 'Viradoro' (para processamento industrial) com resistência a *M. incognita* raça 1 e *M. javanica*, (PINHEIRO, 2014) e o híbrido 'BRS Nagai' com resistência a diferentes espécies e raças do gênero *Meloidogyne* (BOITEUX et al., 2018), são exemplos de resistências conferidas pelo gene *Mi*, no entanto, a resistência é perdida quando a temperatura

do solo passa de 28 °C (WILLIAMSON, 1998; PINHEIRO, 2014a), e frequentemente o gene Mi não confere resistência em populações de nematoide geograficamente isoladas (PINHEIRO, 2014a).

Estes métodos de controle apresentam limitações e o emprego de forma isolada pode não reduzir a população dos nematoides abaixo do limiar de danos econômicos. O uso de métodos alternativos, como indutores de resistência, pode ser uma opção viável para o manejo de doenças, sendo um método com baixa ou nenhuma toxidez (CAETANO, 2011). É importante ressaltar que a indução de resistência não descarta os métodos de controle químicos e culturais, mas é ecologicamente seguro.

2.5 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA

A indução de resistência envolve a ativação de mecanismos de defesa latentes existentes nas plantas em resposta a agentes bióticos (microrganismos) ou abióticos (PASCHOLATI; DALIO, 2018). Os agentes indutores responsáveis pela resposta de resistência nas plantas são chamados de eliciadores (SMITH, 1996), e representam um sinal externo que se liga a um possível receptor na superfície da célula vegetal, iniciando uma interação complexa em níveis bioquímicos e moleculares, impedindo ou dificultando a infecção pelo patógeno e, conseqüentemente, o desenvolvimento da doença (BARROS et al., 2010, SILVA JR; BEHLAU, 2018).

A resistência induzida pode ocorrer de duas formas, pela resistência sistêmica adquirida (RSA) ou pela resistência sistêmica induzida (RSI), e apesar de serem fenotipicamente semelhantes quanto ao modo de ação (AKRAM et al., 2008, PASCHOLATI; DALIO, 2018), são fenômenos distintos, sendo diferenciadas pelo tipo de agente indutor e pela via de sinalização do hospedeiro que resulta na expressão de resistência (VAN LOON; BAKKER; PIETERSE, 1998).

O que define a via a ser ativada é a natureza do agente indutor (CAMARGO, 2018): a RSA pode ser induzida por meio da ação de patógenos necrotróficos ou produtos químicos como o acibenzolar-S-metil (ASM), sendo mediada pelo sinalizador ácido salicílico (AS) e envolvendo o acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese (proteínas-RP), podendo resultar em alterações visuais como necrose por exemplo (MOLINARI; BASER, 2010). Por outro lado, a RSI é induzida por

agentes não patogênicos, microrganismos benéficos, como rizobactérias promotoras de crescimento (BARROS et al., 2010, MOLINARI; BASER, 2010; SALGADO et al., 2007), e é mediada pelo acúmulo de ácido jasmônico (JA) e etileno (ET) (SALGADO et al., 2007), não ocorrendo o acúmulo de proteínas-RP, e a planta que sofreu indução não exhibe alterações morfológicas. Mesmo se tratando de fenômenos distintos a reprogramação transcricional para ambas é por meio da proteína NPR1 (CAARLS; PIETERSE; VAN WEES, 2015).

Dentre os mecanismos envolvidos na indução de resistência, tem-se os compostos fenólicos, que são originados do metabolismo secundário e participam de funções essenciais das plantas como crescimento e reprodução. Estes compostos também são formados em condições de estresse a exemplo de infecções, ferimentos e radiações ultravioleta, atuando como agente anti-patogênico, sendo produzidos rapidamente e se acumulando após a infecção (SHAHIDI; NACZK, 1995; NACZK; SHAHIDI, 2004). Podem ser encontrados em formas livres ou complexadas com açúcares e proteínas, como os flavonoides, os ácidos fenólicos, os taninos e os tocoferóis (NACZK; SHAHIDI, 2004).

As espécies reativas de oxigênio também estão envolvidas principalmente por meio da deposição do ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Estas são produzidas em grande quantidade quando a planta sofre o ataque de patógenos (HU et al., 2009) levando a uma “explosão oxidativa”, que pode ser tóxica ao patógeno, no entanto, em altas concentrações, também podem ser tóxicos as plantas (ŁUKASIK et al., 2012).

As enzimas envolvidas nos mecanismos de indução de resistência podem catalisar reações para formações de compostos a exemplo da fenilalanina amônia-liase (FAL) que está localizada no ponto de ramificação entre os metabolismos primário e secundário, participando da catalização de reações na formação de compostos fenólicos, fitoalexinas fenólicas e ligninas, que estão relacionados com a resistência de plantas a patógenos (TAIZ; ZEIGER, 2013). As peroxidases (POX) catalisam reações de diversos compostos, dentre eles os fenóis (HIRAGA, 2001), e também atuam na formação da lignina e de componentes da parede celular (VAN LOON; VAN STRIEN, 1999).

A lignina é um polímero do grupo dos fenilpropanoides, tendo funções nos metabolismos primário e secundário, conferindo suporte mecânico e exercendo

funções protetoras nos vegetais, podendo interferir no desenvolvimento de patógenos por meio de modificações celulares (VAN LOON; VAN STRIEN, 1999, TAIS; ZEIGER, 2013). Outras enzimas podem atuar potencializando o efeito de outros mecanismos de defesa, como as polifenoloxidasas (PPO), que oxidam compostos fenólicos transformando-os em quinonas altamente tóxicas a microrganismos (AGRIOS 2005; TAIZ; ZAIGER 2013).

Durante o processo de indução de resistência toxinas são geradas e comprometem o funcionamento da célula, para isso as enzimas como a catalase (CAT) agem desintoxicando as células vegetais em condições de estresse, atuando na dismutação direta de H_2O_2 em H_2O e O_2 (GILL; TUTEJA, 2010). A ascorbato peroxidase (APx), assim como a catalase, catalisa a decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), diminuindo os níveis no interior da célula (FÜRSTENBERG-HÄGG et al., 2013), efeito que também é observado pela enzima superóxido dismutase (SOD) a qual oferece a primeira linha de defesa para proteção de efeitos tóxicos dos altos níveis das espécies reativas de oxigênio (GILL; TUTEJA, 2010).

Os processos envolvidos na indução de resistência podem gerar custos metabólicos para planta, uma vez que há competição por substrato e energia, deste modo a planta deve balancear os investimentos nesses processos (GAYLER et al., 2004). Alguns genes podem balancear o metabolismo e equilibrar os custos da planta, logo será dada menor importância a determinada atividade fisiológica, que passa a ser tornar secundária devido o processo de indução (LOGEMANN et al., 1995). Devido ao custo metabólico as plantas que investem suas energias no processo de defesa, sem a presença de patógeno, estão gastando seus recursos sem necessidade, o que poderá refletir na produtividade (KUHN; PASCHOLATI, 2010, IRITI; FAORO, 2003).

Muitas pesquisas vêm sendo realizadas para elucidar a indução de resistência, bem como estudos que comprovam a eficiência desse método por meio de diversos agentes indutores.

Para os agentes indutores bióticos a indução ocorre por organismos viáveis ou inativos, como a *Pochonia chlamydosporia* (GHAHREMANI et al., 2019, DE MEDEIROS et al., 2019), o fungo filamentoso *Trichoderma* spp. (DE MEDEIROS et al., 2017, Martínez-Medina et al., 2017, MOSAHANEH et al., 2021) e as bactérias *Pseudomonas* spp. (MOSAHANEH et al., 2021 VIGILA, SUBRAMANIAN,

DEVRAJAN, 2019) e *Bacillus* spp. (VILJOEN, et al, 2019, VIGILA, SUBRAMANIAN, DEVRAJAN, 2019), todos testados em tomateiro contra *M. javanica* e *M. incognita*.

Quanto aos indutores abióticos, há vários exemplos como ácido beta-aminobutírico contra *M. javanica* e *M. incognita* no tomateiro (ATTIA, 2019; CHAREHGANI et al., 2021), acibenzolar-S-metil contra *Meloidogyne* spp. em tomate, alface e soja (ASIF et al., 2020; HERNANDES et al., 2017, BRITO et al., 2016), fosfitos contra *Pratylenchus brachyurus* no milho (PUERARI et al. 2015) e silicatos contra *Meloidogyne graminicola* no arroz (SOARES et al., 2021; ZHAN et al., 2018).

Os extratos vegetais e fúngicos também são agentes abióticos eficientes na indução de resistência, como extratos de alecrim no controle de *M. incognita* em soja (MÜLLER et al., 2016) e extrato de folhas de pinhão-manso (*Jatropha curcas*) no controle de *M. javanica* em tomateiro (OGWULUMBA; OGWULUMBA, 2018). Dentre os extratos fúngicos, àqueles a base de basidiocarpos têm mostrado resultados promissores, como *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum* (SILVA et al., 2007), *L. edodes* contra *Phytophthora* na pimenteira (KANG et al., 2017), *L. edodes* contra *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* em tomateiro (SILVA, PASCHOLATI, BEDENDO, 2013), e *Pycnoporus sanguineus* no controle de *Alternaria solani* e *Xanthomonas vesicatoria* no tomateiro (ASSI et al., 2017).

No entanto, quando se trata do uso de extratos fúngicos para controle de nematoides os trabalhos são poucos. A seguir são apresentados relatos do uso de basidiocarpos para controle de fitonematoides.

O composto com cogumelo *Pleurotus sajor-caju* cultivado em arroz ou palha de trigo foi incorporado no solo contra *M. incognita* em tomateiros em condições de campo. Os tratamentos reduziram em mais de 80% a população de nematoides, além de reduções por volta de 70% no número de galhas e massa de ovos (MOSTAFA; ALLAH; AWAD-ALLAH, 2019).

Palizi et al. (2009) relataram que a incorporação direta de compostos com diferentes espécies do gênero *Pleurotus* no solo suprimiu mais de 85% dos cistos do nematoide de cisto da beterraba (*Heterodera schachtii*) em condições de campo, e *in vitro*, utilizando filtrados de cultura de *Pleurotus* spp., a mortalidade foi de 20% a 96% dependendo da espécie. Os extratos de *Pleurotus* também paralisaram os nematoides de 50% a 90% de acordo com a espécie.

Tratamentos com a fração de acetato de etila de *Ganoderma lucidum* e *L. edodes* inibiram a eclosão de ovos em 92,6% e 85,6%, e causaram 93,2% e 81,2% de mortalidade de juvenis de *M. incognita*, respectivamente, quando usados na concentração de 1000 mg L⁻¹ de moléculas bioativas após 72 horas de incubação (AKSHAYA et al., 2021).

2.6 *Pycnoporus sanguineus* NO CONTROLE DE DOENÇAS

Entre os fungos com potencial para controle de doenças em plantas está *Pycnoporus sanguineus*. Este fungo pertence a divisão Basidiomycota, família *Polyporaceae*, sendo conhecido popularmente por orelha-de-pau. Seu basidioma ou corpo de frutificação (basidiocarpo) é semicircular e se distribui horizontalmente nos caules de árvores mortas, tendo superfície lisa e levemente zonada de modo concêntrico, com dimensões variáveis e coloração vermelha-alaranjada, ocorrendo em regiões tropicais e subtropicais dos Hemisférios Norte e Sul (NOBLES; FREW, 1962). É um fungo saprófita capaz de degradar celulose, hemicelulose e lignina, que são fontes complexas de carbono (ZIGLIO; SARDELA; GONÇALVES, 2018). Além da eficiência em degradar materiais lignocelulósicos, vem-se estudando a capacidade de *P. sanguineus* induzir resistência contra fitopatógenos.

O extrato de *P. sanguineus* foi utilizado contra *Pseudocercospora griseola* em feijoeiro, resultando em atividade antimicrobiana sobre o patógeno e indução de peroxidases e polifenoloxidasas, de forma localizada e sistêmica (VIECELLI et al., 2009; 2010). No patossistema envolvendo *Colletotrichum lindemuthianum* em feijoeiro, o extrato de *P. sanguineus* promoveu a indução de fenilalanina amônia-liase, β -1,3 glucanase e espécies reativas de oxigênio (BALDO et al. 2011).

Para o controle de bactérias foram utilizados extratos aquosos de basidiocarpo, micélio e filtrado de cultura de *P. sanguineus* contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. O filtrado da cultura e o extrato dos basidiocarpos tiveram atividade antimicrobiana, e quando testados no feijoeiro tiveram potencial para controle, que esteve relacionado com a atividade antimicrobiana direta e/ou indução de resistência envolvendo a ativação das enzimas de defesa vegetal peroxidase, polifenoloxidase, β -1,3 glucanase e fenilalanina amônia-liase (TOILLIER et al., 2010).

No controle da mancha bacteriana causada por *Xanthomonas vesicatoria* e da pinta preta causada por *Alternaria solani*, *P. sanguineus* não apresentou atividade antibacteriana e antifúngica *in vitro*, no entanto, *in vivo* houve redução da severidade das doenças em tomateiro, tendo até 79% de eficiência no controle das mesmas, provavelmente por indução de resistência (ASSI et al., 2017).

Em outro trabalho, o filtrado de *P. sanguineus* também foi testado em tomate para o controle de pinta preta. As plantas foram pulverizadas com filtrado e 120 horas após a inoculação houve o incremento em 22% na atividade de lipoxigenase, porém não foi eficiente no controle da severidade da pinta-preta em tomateiro (ALENCAR et al., 2020).

Os resultados utilizando *P. sanguineus* são promissores, no entanto há muitos patossistemas a serem investigados a fim de se verificar a capacidade de indução de resistência causada por este fungo, tais como os patossistemas com fitonematoides.

2.7 MICROTOM COMO MODELO DE ESTUDO

Plantas modelo como *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*), arroz (*Oryza sativa*) e tabaco (*Nicotiana tabacum*) tem grande importância para a descoberta científica eficiente, possibilitando estudos fisiológicos e genéticos e o desenvolvimento de novos métodos (DIAO et al., 2014, LI et al., 2018, SIERRO et al., 2014). No entanto, com a diversidade de linhagens de plantas, alguns processos importantes não são encontrados em *Arabidopsis*, arroz ou tabaco, dessa forma novas espécies modelo são necessárias (DIAO et al., 2014).

O tomateiro *Solanum lycopersicum* L. cv. MicroTom tem se tornado uma excelente opção para pesquisas básicas e/ou aplicadas em plantas, pois tem pequeno porte, crescimento rápido, ciclo de vida curto da semente até a colheita dos frutos, diversidade de metabólitos secundários, tecidos que facilitam análises bioquímicas (CAMPOS et al., 2010; RANJAN, ICHIHASHI, SINHA, 2012; GONZALEZ et al., 2015; PARROTTA et al., 2020) e seu genoma sequenciado (TOMATO GENOME CONSORTIUM, 2012).

O MicroTom foi inicialmente produzido para finalidades ornamentais, mas no final da década de 90 foi proposto como modelo genético (MEISSNER et al., 1997). O tomateiro cv MicroTom é proveniente do cruzamento de duas plantas anãs, a

Florida Basket e a Ohio-4013-3, conferindo características de planta miniatura. Seus frutos são pequenos e vermelhos e com sementes viáveis, a planta tem cerca de 15 cm, podendo ser cultivada em pequenos vasos com apenas 50-100 mL, capacidade de crescimento em altas densidades e com ciclo de vida entre 70 e 90 dias (SUN et al., 2006; MEISSNER et al. 1997). Com essas propriedades, o MicroTom pode se desenvolver em laboratório com a mesma estrutura mínima necessária para *Arabidopsis* (PINO et al., 2010).

O MicroTom está sendo amplamente utilizado em estudos de desenvolvimento de frutas (SERRANI et al., 2007; GONZALEZ, 2019), interações hormonais (CAMPOS et al., 2009; MANNUCCI, et al., 2020), respostas de estresses abiótico / biótico (GRATÃO et al., 2008; BARSANTI; COLTELLI; GUALTIERI, 2019; BACHA et al., 2017), colonização por fungos micorrízicos (IBIANG; INNAMI; SAKAMOTO, 2018, FRACETTO, PERES, LAMBAIS, 2017), regulação de pequenos genes de RNA e expressão gênica (FRACETTO, PERES, LAMBAIS, 2017; HOFFMANN et al., 2021).

O tomateiro MicroTom é suscetível a diversos patógenos como as bactérias *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* e *Ralstonia solanacearum*, os fungos *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans*, *Oidium lycopersici* e *Sclerotinia sclerotiorum*, os vírus *Cucumber mosaic virus* – CMV, *Tomato aspermy virus* – TAV, *Tomato mosaic virus* – ToMV (ARIE et al., 2007; TUNES et al., 2019), e os nematoides *M. incognita* e *Rotylenchulus reniformis* (AZEVEDO et al., 2020; CHANGKWIAN et al., 2019, NYAKU, et al., 2014; NYAKU et al., 2021). Deste modo, o MicroTom é um excelente modelo para estudos para interação planta-patógeno e testes para controle dos mesmos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na Universidade Estadual do Oeste do Paraná, no Laboratório de Nematologia, Campus de Marechal Cândido Rondon – PR.

3.1 POPULAÇÕES DE *M. incognita* E *M. javanica*

As populações de *M. incognita* e de *M. javanica* foram obtidas de raízes de tomateiro mantidos em casa-de-vegetação do Laboratório de Nematologia da Unioeste, e identificadas com base na configuração da região perineal (HARTMAN; SASSER, 1985).

Para extração de ovos e nematoides das raízes foi utilizada a metodologia descrita em Freitas et al. (2007), baseada na metodologia de Hussey & Barker (1973) modificada por Boneti & Ferraz (1981). As raízes foram cortadas e trituradas em liquidificador por 20 segundos, e o triturado foi vertido sobre peneira de 0,427 mm de abertura de malha (48 Mesh) acoplada na peneira de 0,025 mm de abertura de malha (500 Mesh). Os ovos e juvenis de segundo estágio (J2) retidos na peneira de 500 Mesh foram transferidos para lâmina de Peters e quantificados com microscópio óptico.

Para obtenção somente de J2, foi seguida a metodologia descrita por Franzener et al. (2007), por meio de câmara de eclosão ou funil de Baermann (BAERMANN, 1917). Para tanto, após a extração de ovos e J2 segundo a metodologia de Freitas et al. (2007), estes foram colocados na câmara de eclosão, formada com papel absorvente em formato de cone, fixados em um funil com água e vedada a parte inferior do funil, assim, os J2 eclodidos podiam migrar para o fundo do funil por 24 horas.

3.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO DE *P. sanguineus* E PRECIPITAÇÃO PROTEICA

Basidiocarpos de *P. sanguineus* (Cadastro SISGEN nº AF83853), produzidos conforme a técnica de Martinazzo-Portz (2011), foram secos em estufa a 40 °C por 2 h e moídos em moinho de faca (PEITER-BENINCA et al., 2008). Para obtenção do extrato aquoso foi utilizado pó seco de basidiocarpos de *P. sanguineus* hidratado por 24 h a 4 °C em água estéril, na proporção de 14 mL para cada grama de pó (DI PIERO et al., 2006). Após esse período, a mistura foi filtrada em papel de filtro Whatman nº 1 e, em seguida, em membrana de 0,22 µm de diâmetro de poro. A solução extraída foi denominada extrato bruto aquoso (EB) e foi armazenada a 4 °C até o momento de uso, não ultrapassando sete dias de armazenamento (BALDO et al., 2011).

A partir desse extrato aquoso foi feita a precipitação proteica utilizando etanol 95% em banho de gelo para manter a temperatura a 4 °C. A precipitação foi

fracionada com cinco cortes: 20%, 40%, 60%, 80% e 95% de etanol. Após cada corte a solução foi centrifugada a 10.000xg por 20 min. As proteínas presentes em cada fração foram ressuspensas em 3,5 mL de tampão Tris-HCl 10 mM, pH 8,0. O volume final foi ajustado para 10 mL com o mesmo tampão e o teor de proteínas totais de cada corte foi determinado pela curva-padrão $y = 0,0434x + 0,0431$ ($R^2 = 0,9804$), onde y é o valor de absorbância em 595 nm e x é a concentração proteica (albumina de soro bovino) em $\mu\text{g mL}^{-1}$ (BRADFORD, 1976).

3.3 FRACIONAMENTO DO EXTRATO PROTEICO DE *P. sanguineus* UTILIZANDO CROMATOGRAFIA DE FILTRAÇÃO EM GEL (CFG)

Cada fração proteica do extrato de *P. sanguineus*, obtidas da precipitação etanólica, foi fracionada por cromatografia de filtração em gel (CFG). A CFG foi realizada em coluna de vidro (1,5 cm x 50 cm) preenchida com Sephacryl S-100-HR (Sigma Aldrich), formando um gel sedimentado (fase estacionária). A coluna foi equilibrada com tampão Tris-HCl 0,05 M (pH 6,8) (fase móvel). Foram aplicados 2,0 mL de cada fração proteica (ou corte etanólico) obtidos a partir do extrato aquoso de *P. sanguineus*. As amostras foram eluídas na coluna com o tampão Tris-HCl 0,05 M (pH 6,8), sendo coletadas frações de 1 mL, em fluxo de 0,5 mL min⁻¹. O monitoramento das frações proteicas foi detectado em espectrofotômetro a 280 nm. A coleta das frações e o monitoramento proteico foram realizados em sistema cromatográfico BioLogic LP, da Bio Rad. As frações foram reunidas de acordo com o perfil de distribuição de proteínas.

A massa molecular relativa de cada fração detectada foi estimada pela curva de calibração $y = 8867,4e^{-3,231x}$ (GONÇALVES-TREVISOLI et al., 2016), que foi obtida para esta coluna levando-se em consideração as massas moleculares (valor y da equação em KDa) das proteínas tireoglobulina (670 KDa), globulina (158 KDa), ovalbumina (44 KDa), mioglobina (17 KDa) e vitamina B12 (1,35 KDa), e o quociente do volume de eluição (V_e) dessas proteínas pelo “void volume” (V_o) (valor x da equação). O “void volume” foi obtido com blue dextrana (2000 KDa) ($V_o = 26$ mL).

3.4 ATIVIDADES NEMATICIDA E/OU NEMATOSTÁTICA *IN VITRO* DAS FRAÇÕES PROTEICAS DE *P. sanguineus* CONTRA *M. incognita* E *M. javanica*

Para o ensaio de atividades nematicida e/ou nematostática foi adotado o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e 13 tratamentos: cinco cortes etanólicos (Tabela 1), seis frações proteicas obtidas na CFG (frações I a VI – Tabela 2), extrato aquoso bruto (não fracionado e não diluído) e a testemunha água. Os tratamentos foram avaliados quanto às suas atividades nematicida e/ou nematostática para *M. incognita* e *M. javanica*.

Para motilidade e mortalidade, foram utilizados 200 J2 em frascos plásticos com 4 mL (1 mL com a suspensão de nematoides e 3 mL de tratamento) de cada tratamento, sendo ambos ensaios avaliados conforme metodologia modificada de Coltro-Roncato et al. (2016). A motilidade foi observada após 24 h, avaliando-se o número de J2 aparentemente inativos. Em seguida, os J2 foram transferidos para peneira de 500 Mesh descartando o tratamento, substituindo-se o extrato por água, e após 24 horas de incubação em água, para diferir os nematoides imóveis dos mortos, foi adicionado a cada parcela experimental 10% (v:v) de hidróxido de sódio a 1%, com propósito de excitar os nematoides vivos e assim quantificar os nematoides mortos.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade de erro, e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, usando o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

3.5 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM TOMATEIRO MICROTOM CONTRA *M. incognita* E *M. javanica*

3.5.1 ENSAIOS COM TODOS OS CORTES ETANÓLICOS E FRAÇÕES PROTEICAS

Nos ensaios de indução de resistência foi utilizado o tomateiro MicroTom. As sementes foram colocadas em bandejas de 128 células contendo substrato comercial. Após 15 dias, as plântulas foram transplantadas para vasos de 500 mL contendo substrato comercial. As sementes foram obtidas pelo cultivo de MicroTom em casa de vegetação. Quando as plantas tinham frutos maduros, estes foram colhidos, as sementes retiradas, lavadas em água corrente para remover o excesso

de mucilagem, secas a sombra por 48 h a 27 °C, e depois foram armazenadas a 4 °C em envelopes de papel alumínio.

No momento do transplante, cada muda teve seu sistema radicular imerso por 10 segundos em cada um dos 13 tratamentos indicados no item 3.4. Após três dias do transplante, as mudas foram inoculadas com uma suspensão contendo 2.000 ovos e J2 (População inicial - Pi) de *M. incognita* ou *M. javanica* por planta, em três orifícios realizados em torno da muda, a 1,5 cm de distância entre si e 2,0 cm de profundidade. O ensaio foi conduzido por 45 dias em câmara de crescimento com fotoperíodo de 12 horas de luz ($200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a 26 °C, com lâmpadas de LED (LAZZARINI et al., 2017), em delineamento em blocos casualizados com seis repetições.

Após 45 dias da inoculação as plantas foram coletadas e a parte aérea separada do sistema radicular. Na parte aérea avaliou-se as massas fresca e seca, sendo esta obtida após secagem em estufa de circulação forçada de ar, a 65 °C, até a massa constante. O sistema radicular foi cuidadosamente lavado, colocado sobre papel absorvente para eliminação do excesso de água e, em seguida, foi determinada a massa fresca.

Posteriormente, avaliou-se os parâmetros nematológicos: primeiramente contou-se o número de galhas por sistema radicular, em seguida os nematoides foram extraídos, conforme metodologia citada anteriormente, e avaliou-se a população final (PF) de *M. incognita* e de *M. javanica* (número de ovos + J2 por sistema radicular). A partir desse dado foi obtido o número de nematoides por grama de raiz, pela divisão da população final de nematoides pela massa fresca de raízes. O cálculo do fator de reprodução [FR = população final/população inoculada (OOSTENBRINK, 1966)] também foi realizado.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade de erro, e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, usando o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

3.5.2 ENSAIOS COM FRAÇÕES PROTEICAS SELECIONADAS

A partir dos resultados obtidos no ensaio anterior com todos os cortes etanólicos e frações proteicas, foram identificados os tratamentos com maior potencial para controle de *M. javanica* e *M. incognita* em tomateiro MicroTom,

realizando-se assim novos ensaios apenas com os selecionados. A seleção dos tratamentos envolveu não apenas os valores de redução de variáveis nematológicas ou de incremento de variáveis vegetativas, mas também a quantidade (volume) de cada corte ou fração que viabilizasse a montagem de novos ensaios.

O experimento foi conduzido por 45 dias em câmara de crescimento com fotoperíodo de 12 horas de luz e avaliado conforme descrito anteriormente (item 3.5.1). Além das variáveis analisadas descritas no item 3.5.1, adicionalmente avaliou-se massa de ovos nas raízes, que foram coradas com Floxina B (15 mg L⁻¹) e, após 20 min, lavadas para tirar o excesso de corante (TAYLOR & SASSER, 1978). O número de massa de ovos foi contado com auxílio de lupa de mesa.

O experimento foi realizado em blocos casualizados, com 10 repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade de erro e, quando significativos, avaliados por teste de Tukey. Para o teste de comparação com controle foi realizado o teste de Dunnett. Utilizou-se os programas estatísticos Sisvar (FERREIRA, 2011) e Genes (CRUZ, 2013).

3.6 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Concomitantemente ao ensaio de indução de resistência com frações proteicas selecionadas (item 3.5.2) foram retiradas amostras para análise bioquímica de enzimas envolvidas na defesa vegetal. Para tanto, foram coletadas amostras de 0,5 g de raiz nos seguintes tempos: zero (no momento dos tratamentos, ou seja, no momento do transplante), 3 dias (no momento da inoculação, ou seja, três dias após os tratamentos) e 7, 11, 15, 19 e 23 dias após os tratamentos.

Em cada tempo de coleta, amostrava-se um grupo distinto de plantas, uma vez que a amostragem era destrutiva. Imediatamente após as coletas, as raízes foram cuidadosamente lavadas em água corrente, secas com papel toalha, pesadas em balança analítica e acondicionadas em papel alumínio, sendo na sequência armazenadas a -20 °C para as análises de peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase.

3.6.1 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISES ENZIMÁTICAS

As amostras de raízes (0,5 g) foram colocadas em tubos de microcentrífuga com volume de 2 mL, contendo matrix D (esfera de zircônio para macerar a raiz) e 1 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0) contendo 0,1 mM EDTA e 1% (massa/massa) de poli-vinil-pirrolidona. Em seguida, os tubos foram levados ao homogeneizador de amostras FastPrep-24TM 5G, por 40 segundos e força de 7 m s^{-1} .

Este macerado foi centrifugado por 25 min a $10.000 \times g$, à $4 \text{ }^\circ\text{C}$. O sobrenadante, considerado o extrato enzimático, foi transferido para microtubos e armazenados a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$. O extrato foi utilizado para a determinação do conteúdo protéico e atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase.

O conteúdo proteico foi determinado pelo método de Bradford (1976). Para isto foi adicionado 2,5 mL do reagente de Bradford em 50 μL do sobrenadante obtido anteriormente, e misturados em vórtex. Foi realizada a leitura após 5 min em espectrofotômetro a 595 nm. Como padrão foi utilizado albumina de soro bovino e a concentração de proteína na amostra foi expressa ($\text{mg proteína mL}^{-1}$).

3.6.2. ATIVIDADE DE FENILALANINA AMÔNIA-LIASE (FAL)

A atividade da FAL foi determinada pela quantificação colorimétrica do ácido *trans*-cinâmico liberado do substrato fenilalanina (UMESHA, 2006). A mistura da reação, incubada a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 h, continha 100 μL do extrato enzimático, 400 μL do tampão Tris-HCl 25 mM pH 8,8 e 500 μL de fenilalanina (50 mM em tampão Tris-HCl 25 mM pH 8,8). A absorbância foi determinada a 290 nm, contra tampão de extração, sendo subtraído de cada amostra o valor do controle (esse controle correspondia a uma mistura 100 μL do extrato proteico e 900 μL de tampão Tris-HCl 25 mM pH 8,8). As leituras de absorbância foram plotadas em curva padrão para o ácido *trans*-cinâmico e a atividade enzimática expressa em μg de ácido *trans*-cinâmico $\text{min}^{-1} \text{ mg de proteína}^{-1}$.

3.6.3. ATIVIDADE DE POLIFENOLOXIDASE (PPO)

A atividade de PPO foi determinada pela técnica de Duangmal & Apenten (1999). O ensaio consistiu em mensurar a oxidação do catecol convertendo-o em

quinona. O substrato foi composto por catecol na concentração de 20 mM dissolvido em tampão fosfato de sódio 100 mM, pH 6,8. A reação se desenvolveu misturando 900 µL do substrato e 100 µL do extrato enzimático. A temperatura de reação foi 30 °C. Leituras em espectrofotômetro a 420 nm foram realizadas de forma direta por um período de 2 min. O diferencial entre a última e a primeira leitura foi utilizado para determinação da atividade. Os resultados foram expressos em unidades de absorção $\text{min}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{proteína}$.

3.6.4. ATIVIDADE DE PEROXIDASE (POX)

A atividade da POX foi determinada de acordo com Lusso & Pascholati (1999), pela conversão do guaiacol a tetraguaiacol, em espectrofotômetro a 470 nm. Foi utilizado 0,1 mL do extrato enzimático e 2,9 mL de substrato (solução com 250 µL de guaiacol e 306 µL de H_2O_2 em 100 mL de tampão fosfato 0,01 M pH 6,0). Sua atividade foi expressa em unidade de absorção $\text{min}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{proteína}$.

4 RESULTADOS

4.1 CORTES ETANÓLICOS DOS EXTRATOS DE *P. sanguineus*

O teor de proteínas dos cinco cortes etanólicos obtidos a partir do extrato aquoso de *P. sanguineus* estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Teor de proteína dos cortes etanólicos obtidos de basidiocarpos de *P. sanguineus* em gradientes crescentes de etanol.

Corte etanólico	Teor de proteína ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
20%	179,70
40%	686,40
60%	1.074,60
80%	520,90
95%	186,40

Pode-se observar que o precipitado ou corte etanólico com maior teor de proteínas totais foi o de 60%, seguido pelos cortes de 80% e 40%, enquanto os menores teores proteicos estão nos cortes 95% e 20%. Todos os cortes foram testados individualmente nos ensaios para atividade nematocida/nematostática *in vitro*, bem como foram fracionados por CFG.

4.2 FRAÇÕES PROTEICAS OBTIDAS POR CFG A PARTIR DOS CORTES ETANÓLICOS DO EXTRATO DE *P. sanguineus*

As frações proteicas obtidas por cromatografia de filtração em gel estão apresentadas na Tabela 2. Foram obtidas: uma fração proteica para o corte etanólico 20%, duas para o corte 40%, e uma para cada corte 60%, 80% e 95%. Para facilitar a apresentação desses dados, essas seis frações proteicas foram identificadas como I, II, III, IV, V e VI, cujos volumes de eluição (Ve) foram respectivamente: 60,5 mL, 42 mL, 87,5 mL, 47 mL, 61,5 mL e 62 mL. As massas moleculares das frações I a VI foram respectivamente 4,81; 47,98; 0,17; 25,78; 4,25 e 4 KDa. Embora o corte etanólico 60% tenha apresentado o maior teor de proteínas totais (Tabela 1), o fracionamento do mesmo indicou a presença de apenas uma proteína. Apenas o corte 40% apresentou duas frações proteicas, com a menor e a maior massa molecular entre as seis proteínas obtidas por CFG.

Tabela 2. Frações proteicas obtidas por cromatografia de filtração em gel de cortes etanólicos do extrato aquoso de basidiocarpos de *P. sanguineus*.

Corte etanólico	Fração proteica	Massa molecular (KDa)*
20%	I	4,81
40%	II	47,98
	III	0,17
60%	IV	25,78
80%	V	4,25
95%	VI	4,00

*Massas moleculares determinadas pela equação $y = 8867,4 e^{-3,231 x}$.

Todas as frações proteicas identificadas foram testadas individualmente nos ensaios para atividade nematicida/nematostática *in vitro*, bem como nos ensaios de indução de resistência.

4.3 ATIVIDADE NEMATICIDA E/OU NEMATOSTÁTICA *IN VITRO* DAS FRAÇÕES PROTEICAS DE *P. sanguineus* CONTRA *M. incognita* E *M. javanica*

O grupo que causou a maior inibição da motilidade em *M. javanica* foi o do extrato não fracionado e corte etanólico 95%. No outro extremo está o grupo da testemunha e da fração proteica I com a maior motilidade (ou sem inibição). O grupo formado por corte etanólico 80% e frações II, III e IV reduziu a motilidade de *M. javanica* em média 80%, enquanto o grupo formado pelos cortes etanólicos 40% e 60% reduziu em média 91% a motilidade. Os demais tratamentos apresentaram valores intermediários de inibição (Tabela 3).

Quanto à mortalidade *M. javanica*, novamente o grupo formado pelo extrato aquoso e o corte etanólico 95% apresentou a maior toxicidade. A testemunha, o corte etanólico 20% e as frações I e VI apresentaram a menor mortalidade. O grupo dos cortes 40% e 60% causou em média 91% de mortalidade e o grupo do corte 80% teve mortalidade de 72% (Tabela 3).

Tabela 3. Motilidade e mortalidade de *Meloidogyne javanica* na presença de extrato aquoso bruto (não fracionado), cortes etanólicos e frações proteicas de *Pycnopus sanguineus*.

Tratamentos	Motilidade (%)	Mortalidade (%)
Testemunha (água)	98,54 a	0 g
Extrato aquoso	0 g	100,00 a
Corte etanólico 20%	74,56 b	2,78 g
Corte etanólico 40%	06,51 f	90,15 b
Corte etanólico 60%	10,25 f	91,61 b
Corte etanólico 80%	15,89 e	72,24 c
Corte etanólico 95%	02,90 g	96,89 a
Fração proteica I	94,80 a	01,19 g
Fração proteica II	20,07 e	47,73 d

Fração proteica III	20,52 e	47,23 d
Fração proteica IV	21,50 e	42,03 e
Fração proteica V	35,41 d	12,62 f
Fração proteica VI	61,17 c	0,78 g
CV (%)	8,68	5,22

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. CV: coeficiente de variação.

Para motilidade de *M. incognita*, o grupo do extrato não fracionado causou 100% de imobilidade. O grupo da testemunha e da fração proteica I resultou na maior motilidade (ou sem inibição). Os cortes etanólicos 40%, 60%, 80% e 95%, cada um formando um grupo individual, reduziram a motilidade de *M. incognita* em média 91%. Os demais tratamentos apresentaram valores intermediários de inibição (Tabela 4).

Para mortalidade, novamente o grupo formado pelo extrato aquoso apresentou a maior toxicidade. A testemunha, o corte etanólico 20% e as frações I e VI apresentaram a menor mortalidade. Os cortes 40%, 60%, 80% e 95%, cada um formando um grupo individual, causaram em média 86% de mortalidade. Os demais tratamentos apresentaram valores intermediários de inibição (Tabela 4).

Tabela 4. Motilidade e mortalidade de *Meloidogyne incognita* na presença de extrato aquoso bruto (não fracionado), cortes etanólicos e frações proteicas de *Pycnopus sanguineus*.

Tratamentos	Motilidade (%)	Mortalidade (%)
Testemunha (água)	99,94 a	0 j
Extrato aquoso	0 j	100,00 a
Corte etanólico 20%	74,87 b	1,01 j
Corte etanólico 40%	6,97 i	87,43 d
Corte etanólico 60%	10,65 h	89,75 c
Corte etanólico 80%	16,58 g	71,83 e
Corte etanólico 95%	3,52 j	97,03 b
Fração proteica I	98,11 a	1,72 j
Fração proteica II	23,96 e	56,61 f

Fração proteica III	19,72 f	48,83 g
Fração proteica IV	23,51 e	39,95 h
Fração proteica V	39,68 d	13,31 i
Fração proteica VI	64,14 c	0 j
CV (%)	3,17	2,23

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. CV: coeficiente de variação.

4.4 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DAS FRAÇÕES PROTEICAS DE *P. sanguineus* EM TOMATEIRO MICROTOM CONTRA *M. incognita* E *M. javanica*

4.4.1 Ensaios com todos os cortes etanólicos e frações proteicas

Para *M. javanica*, com relação ao número de galhas, o grupo formado por corte etanólico 60% e frações III e V, e o grupo formado pelas frações II, IV e VI reduziram esse parâmetro em média em 40% e 58%, respectivamente, em relação à média do grupo da testemunha. Para ovos + J2 total, o grupo formado por extrato aquoso, cortes 20% e 40% e fração V aumentou em média 93% essa variável em relação à média do grupo da testemunha. Para ovos + J2 por grama de raiz houve redução média de 41% para o grupo formado pelas frações I, II, III e VI em relação à média do grupo da testemunha. Considerando-se o valor inoculado de 2.000 ovos + J2 e os valores de ovos + J2 total obtidos ao final do ensaio, todos os valores de fator de reprodução (FR) foram superiores a 1 (Tabela 5).

Tabela 5. Número de galhas, ovos + J2 total por sistema radicular, ovos + J2 por grama de raiz e fator de reprodução (FR) em tomateiro MicroTom tratado com extrato aquoso bruto (não fracionado), cortes etanólicos e frações proteicas de *Pycnopus sanguineus* e inoculado com *Meloidogyne javanica*.

Tratamentos	Galhas	Ovos + J2 total	Ovos + J2 g raiz ⁻¹	FR
Testemunha (água)	616 a	17.068 b	4.790 a	8,53
Extrato aquoso	479 a	30.115 a	5.584 a	15,06
Corte etanólico 20%	509 a	23.236 a	4.547 a	11,62
Corte etanólico 40%	510 a	33.313 a	5.744 a	16,65
Corte etanólico 60%	275 b	19.344 b	4.436 a	9,67

Corte etanólico 80%	547 a	19.584 b	4.237 a	9,79
Corte etanólico 95%	501 a	16.444 b	5.246 a	8,22
Fração proteica I	504 a	10.920 b	3.539 b	5,46
Fração proteica II	254 c	7.936 b	2.178 b	3,97
Fração proteica III	368 b	12.565 b	3.239 b	6,28
Fração proteica IV	201 c	18.230 b	5.364 a	9,11
Fração proteica V	298 b	29.970 a	5.594 a	14,98
Fração proteica VI	205 c	13.852 b	2.906 b	6,92
CV (%)	19,35	38,64	39,41	-

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. CV: coeficiente de variação.

Para as variáveis de crescimento de tomateiro inoculado com *M. javanica* (Tabela 6), houve significância apenas para massa fresca de raiz (MFR), com incremento médio de 43% para o grupo formado pelo extrato aquoso, cortes 20%, 40%, 60% e 80% e frações V e VI, em relação à média do grupo da testemunha.

Tabela 6. Massa fresca da parte aérea (MFA), massa seca da parte aérea (MSA) e massa fresca da raiz (MFR) de tomateiro MicroTom tratado com extrato aquoso bruto (não fracionado), cortes etanólicos e frações proteicas de *Pycnoporus sanguineus* e inoculado com *Meloidogyne javanica*.

Tratamentos	MFA (g)	MSA (g)	MFR (g)
Testemunha (água)	20,36 a	2,19 a	3,74 b
Extrato aquoso	22,04 a	2,73 a	5,46 a
Corte etanólico 20%	20,30 a	2,42 a	5,02 a
Corte etanólico 40%	21,24 a	2,50 a	5,88 a
Corte etanólico 60%	22,10 a	2,54 a	4,68 a
Corte etanólico 80%	18,88 a	2,41 a	4,44 a
Corte etanólico 95%	19,28 a	2,30 a	3,00 b
Fração proteica I	18,32 a	2,20 a	3,34 b
Fração proteica II	18,86 a	2,28 a	3,80 b
Fração proteica III	19,46 a	2,37 a	3,84 b
Fração proteica IV	17,28 a	2,12 a	3,42 b

Fração proteica V	18,14 a	2,36 a	5,36 a
Fração proteica VI	18,86 a	1,88 a	4,52 a
CV (%)	19,77	16,81	21,06

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. CV: coeficiente de variação.

Os resultados para *M. incognita* encontram-se na Tabela 7. Para o número de galhas, o grupo formado por extrato aquoso, cortes 40%, 80% e 95% e frações IV, V e VI incrementou em média 59% essa variável em relação à média do grupo formado pela testemunha. Houve incremento de 265% para ovos + J2 total no grupo formado por extrato aquoso, cortes 80% e 95% e fração VI, e incremento de 232% para ovos + J2 por grama de raiz para o grupo formado por extrato aquoso, cortes 80% e 95% e frações II, V e VI, sempre em relação às médias dos grupos com a testemunha. Considerando-se o valor inoculado de 2.000 ovos + J2 e os valores de ovos + J2 total obtidos ao final do ensaio, todos os valores de fator de reprodução (FR) foram superiores a 1.

Tabela 7. Número de galhas, ovos + J2 total por sistema radicular, ovos + J2 por grama de raiz e fator de reprodução (FR) em tomateiro MicroTom tratado com extrato aquoso bruto (não fracionado), cortes etanólicos e frações proteicas de *Pycnopus sanguineus* e inoculado com *Meloidogyne incognita*.

Tratamentos	Galhas	Ovos + J2 total	Ovos + J2 g raiz ⁻¹	FR
Testemunha (água)	179 b	4.480 b	1.383 b	2,24
Extrato aquoso	467 a	11.957 a	1.825 a	5,98
Corte etanólico 20%	258 b	4.164 b	550 b	2,10
Corte etanólico 40%	365 a	4.328 b	498 b	2,16
Corte etanólico 60%	199 b	8.568 b	1.168 b	4,28
Corte etanólico 80%	303 a	15.568 a	2.688 a	7,78
Corte etanólico 95%	404 a	17.370 a	2.248 a	8,68
Fração proteica I	188 b	4.745 b	1.136 b	2,37
Fração proteica II	261 b	6.200 b	2.130 a	3,10
Fração proteica III	284 b	4.504 b	1.091 b	2,25
Fração proteica IV	326 a	6.064 b	1.178 b	3,03

Fração proteica V	360 a	9.216 b	1.843 a	4,61
Fração proteica VI	318 a	16.756 a	3.180 a	8,38
CV (%)	32,59	44,29	53,33	-

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. CV: coeficiente de variação.

Os resultados para as variáveis de crescimento de tomateiro inoculado com *M. incognita* estão na Tabela 8. Para massa fresca de parte aérea, o grupo formado por extrato aquoso e fração VI incrementou em média 35% essa variável, no entanto, houve redução de 49% para o grupo formado pelos cortes 20%, 40%, 60%, 80% e 95%, sempre em relação à média do grupo da testemunha. Para massa seca de parte aérea, houve incremento de 44% para o grupo extrato aquoso e frações II, IV e VI, e redução de 53% para o grupo dos cortes etanólicos 40%, 60%, 80% e 95%, em relação à média do grupo da testemunha. Para massa fresca de raiz houve incremento de 62% no grupo dos cortes etanólicos 20%, 40%, 60%, 80% e 95% em relação à média do grupo da testemunha.

Tabela 8. Massa fresca da parte aérea (MFA), massa seca da parte aérea (MSA) e massa fresca da raiz (MFR) de tomateiro MicroTom tratado com extrato aquoso bruto (não fracionado), cortes etanólicos e frações proteicas de *Pycnoporus sanguineus* e inoculado com *Meloidogyne incognita*.

Tratamentos	MFA (g)	MSA (g)	MFR (g)
Testemunha (água)	8,58 b	0,78 b	3,30 b
Extrato aquoso	10,94 a	1,22 a	6,62 b
Corte etanólico 20%	4,68 c	0,76 b	7,94 a
Corte etanólico 40%	5,24 c	0,45 c	8,50 a
Corte etanólico 60%	3,20 c	0,30 c	7,26 a
Corte etanólico 80%	4,00 c	0,36 c	6,68 a
Corte etanólico 95%	4,04 c	0,38 c	8,26 a
Fração proteica I	7,52 b	0,78 b	4,52 b
Fração proteica II	9,36 b	1,04 a	3,76 b

Fração proteica III	6,84 b	0,74 b	4,26 b
Fração proteica IV	8,56 b	1,02 a	5,24 b
Fração proteica V	8,58 b	0,88 b	5,00 b
Fração proteica VI	11,40 a	1,30 a	5,42 b
CV (%)	23,83	34,86	25,00

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. CV: coeficiente de variação.

4.4.2 Ensaio com frações selecionadas

Para os ensaios com *M. javanica* foram selecionadas as frações proteicas II e V. Para *M. incognita* foi selecionada apenas a fração proteica VI. Para esses ensaios utilizando frações selecionadas, não houve diferença estatística para as variáveis nematológicas e vegetativas, tanto para *M. javanica* (Tabelas 9 e 10) quanto para *M. incognita* (Tabelas 11 e 12).

Tabela 9. Número de massas de ovos, galhas, ovos + J2 total por sistema radicular e ovos + J2 por grama de raiz em tomateiro MicroTom tratado com frações proteicas de *Pycnopus sanguineus* e inoculado com *Meloidogyne javanica*.

Tratamentos	Massa de Ovos ^{ns}	Galhas ^{ns}	Ovos + J2 total ^{ns}	Ovos + J2 g raiz ^{-1 ns}
Testemunha (água)	100	126	19.051	4.767
Fração proteica II	81	93	15.348	3.501
Fração proteica V	85	93	13.747	3.610
CV (%)	53,28	47,41	48,91	55,52

^{ns}: não significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV: coeficiente de variação.

Tabela 10. Massa fresca da parte aérea (MFA), massa seca da parte aérea (MSA) e massa fresca da raiz (MFR) de tomateiro MicroTom tratado com frações proteicas de *Pycnopus sanguineus* e inoculado com *Meloidogyne javanica*.

Tratamentos	MFA (g) ^{ns}	MSA (g) ^{ns}	MFR (g) ^{ns}
Testemunha (água)	22,87	2,63	4,14
Fração proteica II	22,27	2,60	4,74

Fração proteica V	21,51	2,53	3,92
CV (%)	17,79	17,42	20,76

^{ns}: não significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV: coeficiente de variação.

Tabela 11. Número de massas de ovos, galhas, ovos + J2 total por sistema radicular e ovos + J2 por grama de raiz em tomateiro MicroTom tratado com fração proteica de *Pycnopus sanguineus* e inoculado com *Meloidogyne incognita*.

Tratamentos	Massa de Ovos ^{ns}	Galhas ^{ns}	Ovos + J2 total ^{ns}	Ovos + J2 g raiz ^{-1 ns}
Testemunha (água)	44	65	3.188	1.692
Fração proteica VI	40	56	3.139	1.685
CV (%)	53,73	40,04	41,53	34,32

^{ns}: não significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV: coeficiente de variação.

Tabela 12. Massa fresca da parte aérea (MFA), massa seca da parte aérea (MSA) e massa fresca da raiz (MFR) de tomateiro MicroTom tratado com fração proteica de *Pycnopus sanguineus* e inoculado com *Meloidogyne incognita*.

Tratamentos	MFA (g) ^{ns}	MSA (g) ^{ns}	MFR (g) ^{ns}
Testemunha (água)	14,26	1,88	1,92
Fração proteica VI	14,43	1,74	1,87
CV (%)	15,19	18,71	25,42

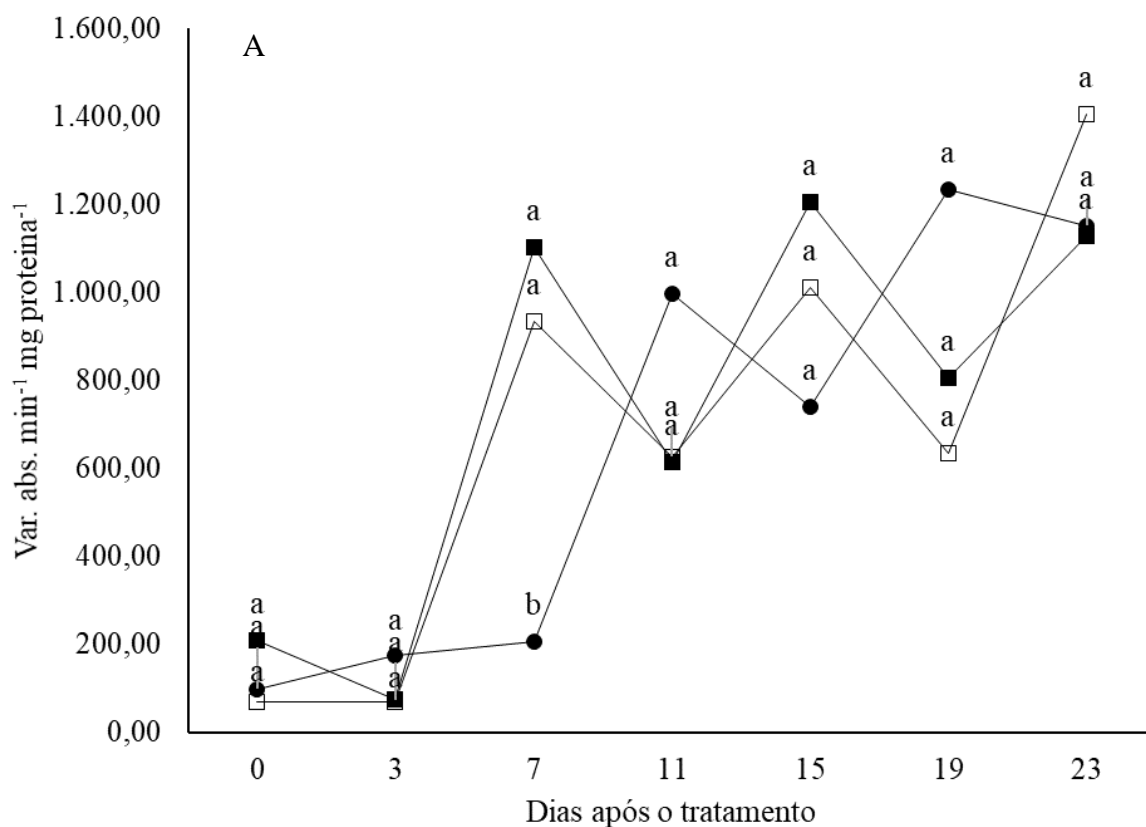
^{ns}: não significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV: coeficiente de variação.

4.5 MECANISMOS DE DEFESA ENVOLVIDOS NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DAS FRAÇÕES PROTEICAS SELECIONADAS DE *P. sanguineus* EM TOMATEIRO MICROTOM CONTRA *M. incognita* E *M. javanica*

Para tomateiro MicroTom tratado com as frações proteicas II e V e inoculado com *M. javanica*, houve diferença apenas no tempo sete dias após os tratamentos (ou quatro dias após a inoculação), com incremento da atividade de peroxidase (Figura 1A) para as plantas tratadas com essas frações proteicas em relação à testemunha, com atividade em média 4,94 vezes maior.

Para polifenoloxidase houve diferença no tempo três dias após os tratamentos (ou momento da inoculação) e também no tempo 11 dias após os tratamentos (ou oito dias após a inoculação). No entanto, a diferença foi representada por redução na atividade enzimática nas plantas tratadas com essas frações proteicas, cujos valores foram em média 78% e 72% menores nos tempos três e 11 dias respectivamente (Figura 1B).

Para a atividade de fenilalanina amônia-liase nas plantas tratadas com as frações proteicas II e V e inoculadas com *M. javanica*, não houve diferença entre os tratamentos dentro de nenhum tempo amostrado (dados não mostrados).



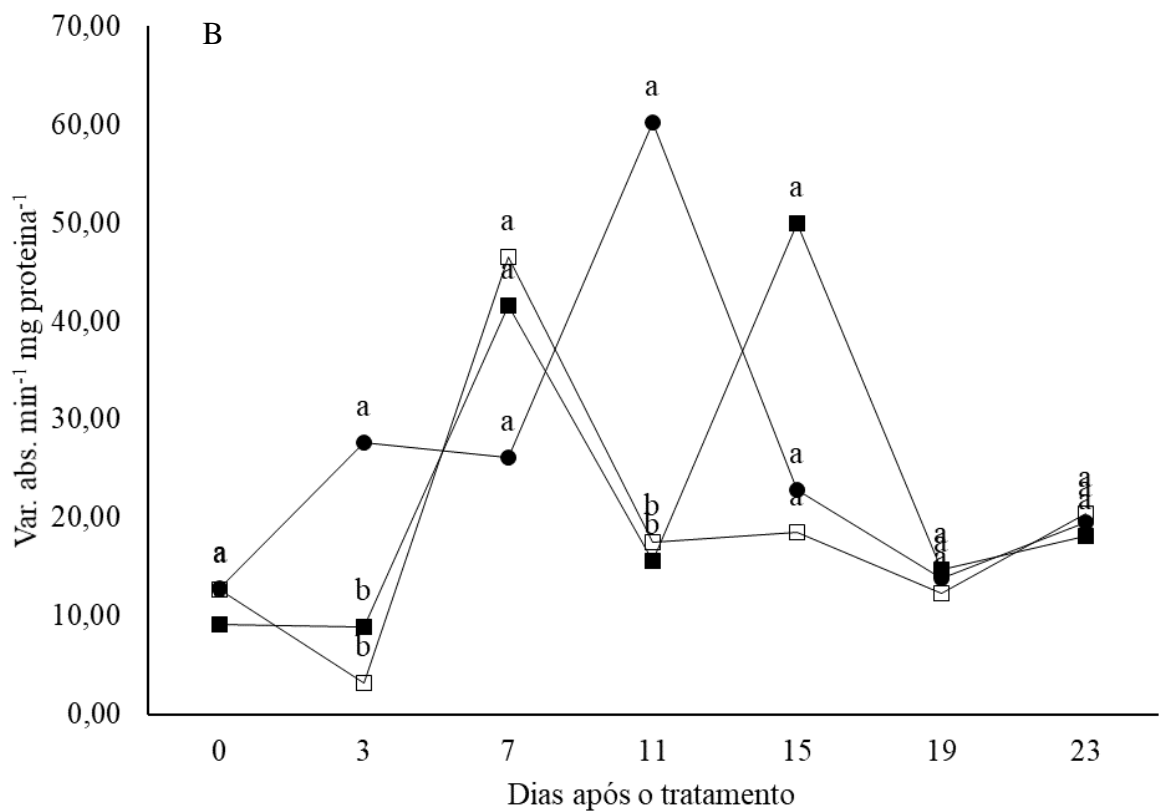


Figura 1. Atividade das enzimas peroxidase (A) e polifenoloxidase (B) em raízes de tomateiro MicroTom tratadas com frações proteicas de *Pycnoporus sanguineus* e inoculadas com *Meloidogyne javanica*. O tratamento ocorreu no momento do transplante (tempo zero) através da imersão das raízes. A inoculação ocorreu três dias após os tratamentos. Testemunha (água): ●; fração proteica II: ■; fração proteica V: □. Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tempo não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Para o patossistema tomateiro-*M. incognita*, cujas plantas foram tratadas com a fração proteica VI, não houve alteração nas atividades de peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase (dados não mostrados).

5. DISCUSSÃO

No presente estudo o extrato aquoso não fracionado de *P. sanguineus* e os cortes etanólicos de 95% para *M. javanica* e de 40%, 60%, 80% e 95% para *M.*

incognita foram os tratamentos que mais reduziram a mobilidade dos J2 desses nematoides. Isto indica a presença de compostos nematostáticos, o que também foi observado por Hahn et al. (2019), em que o extrato de *P. sanguineus* reduziu em mais de 90% a mobilidade de *M. javanica*. Esses mesmos autores verificaram que filtrados do meio de cultivo de outras espécies de basidiomicetos também reduziram a mobilidade de *Meloidogyne* spp., como de *Lentinula edodes*, *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus djamor* e *Coprinus comatus*, com valores de até 100% de J2 imóveis de *M. javanica* após 24 h de exposição ao tratamento.

Para mortalidade de *M. javanica* e *M. incognita*, o extrato de *P. sanguineus* não fracionado por cromatografia ou precipitado com etanol causou até 100% de morte dos J2, efeito nematicida que também foi observado para filtrados brutos de cultura de *Ganoderma lucidum*, *L. edodes*, *Schizophyllum commune* e *Pycnoporus* spp., com mortalidade de 93,5%, 90,83%, 83,50% e 40,50%, respectivamente (THEMUHI et al., 2020). Dessa forma, estudos comprovam a eficiência de extratos de basidiomicetos na atividade inibitória contra nematoides (DONG et al., 2006; ISHIZAKI; NOMURA; WATANABE, 2015; HAHN et al., 2019; THEMUHI et al., 2020).

Alguns compostos com ação nematostática e nematicida já foram identificados como os extraídos de *P. ostreatus*, caracterizados como uma toxina similar aos peróxidos, que inibiu 95% do movimento do nematoide *Bursaphelenchus xylophilus* (KWOK et al., 1992), além de ácidos graxos como coriólico e linoleico (STADLER et al., 1994; LI et al., 2007; LIU et al., 2011; BUA-ART et al., 2011; SIVANANDHAN et al., 2017), aldeídos como 5-pentil-2-furaldeído e 5(4-penteni)-2-furaldeído isolados de *Irpex lacteus* (HAYASHI; WADA; MUNAKATA, 1981), compostos fenólicos (FERREIRA, BARROS e ABREU, 2009; DEGENKOLB e VILCINSKAS, 2016) e pentadecanoic acid, octadecadienoic acid, octadecanoic acid, and the terpene β -sitosterol (CHAURASIA, BHARATI, KUMAR, 2020). Há ainda toxinas paralisantes extraídas de *Pleurotus cystidiosus* (LUO et al., 2004). Para *P. sanguineus*, the alkaloid phenoxazone, isolated from fruiting bodies (GIL, 1994), showed nematicidal activity against *M. incognita* (LD_{50} : 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (LI et al., 2007).

Compostos nematicidas/nematostáticos de natureza proteica, como neste trabalho com *P. sanguineus*, foram identificados em *Hypsizygyus marmoreus*, que produziu duas proteases de 30,2 e 33,7 kDa capazes de reduzir em até 52% a

viabilidade de *Panagrellus redivivus* (SOARES et al., 2019), em *Flammulina velutipes* (FERREIRA et al., 2019), e em *Pleurotus eryngii* que produziu proteases e quitinases em filtrado de cultura que reduziram a viabilidade de ovos de *M. javanica* (SULFIATE et al., 2017). No entanto, para esses dois basidiomicetos, esses compostos proteicos foram obtidos a partir do composto exaurido ou do filtrado de cultura, diferentemente deste trabalho com *P. sanguineus*, cujas frações proteicas foram obtidas diretamente dos basidiocarpos.

As frações proteicas apresentaram baixa taxa de mortalidade e baixa inibição de motilidade, provavelmente o fracionamento reduziu os compostos nematicidas de cada tratamento, baixando a efetividade na supressão de *M. javanica* e *M. incognita*. Além disso, a ação nematicida de basidiomicetos pode ter a interferência de diversos fatores como temperatura, tempo de incubação do confronto, características genéticas de cada linhagem e diferenças entre as espécies de nematoides (PALIZI et al., 2009).

Extrato metanólico de oito espécies de basidiomicetos (*Cordyceps militaris*, *Metacordyceps neogunni*, *Hericium erinaceus*, *Dictyosphora indusiata*, *Cerioporus squamosus*, *Tirmanea nivea*, *Tirmanea pinoyi* e *Agaricus impudicans*), em concentração de 80 $\mu\text{L mL}^{-1}$, causaram mortalidade de J2 de *M. incognita* em níveis que variaram de 79% a 97%, além de reduzir entre 59% e 81% a eclosão de ovos, no entanto, a composição química desses extratos não foi analisada (SOLIMAN et al., 2022). É possível observar que estes extratos foram eficientes mesmo nesta baixa concentração, contudo, deve-se ressaltar que os autores rotoevaporaram o metanol, concentrando assim os compostos nematicidas, diferentemente deste trabalho onde foi utilizado extrato aquoso de *P. sanguineus* e, portanto, com menor concentração de compostos ativos. Obviamente, em concentrações maiores o efeito nematicida é potencializado, como os extratos, como os extratos de *Ganoderma lucidum* e *Lentinus edodes*, que em concentração de 1000 ppm causaram mais de 90% de mortalidade de J2 de *M. incognita* (AKSHAYA et al., 2021).

Nos ensaios *in vivo* para seleção das frações proteicas para o controle de *M. javanica*, selecionou-se as frações com menor número de nematoides e em volume viável para realização de novos ensaios, sendo elas as frações II e V, respectivamente. Nos testes com *M. incognita* alguns tratamentos aumentaram o número de nematoides em relação a testemunha, sendo selecionado a fração VI

afim de analisar se a mesma teria algum efeito em reduzir a atividade das enzimas de defesa estudadas.

Na literatura há muitos relatos da atividade nematicida *in vitro* de compostos extraídos de macrofungos basidiomicetos, bem como pelo controle biológico por parasitismo direto (ELKHATEEB, DABA, GAZIEA, 2021). Há também trabalhos que utilizam substrato colonizado por basidiomicetos e incorporado ao solo, como *Lentinula edodes* (SANTANA-SANTOS et al., 2022) e *Pleurotus ostreatus* (MARINO; SILVA, 2013) para controle de *M. incognita* em alface. No entanto, são escassos trabalhos para controle *in vivo* de nematoides quando se considera apenas o uso de compostos produzidos por basidiomicetos. Neste contexto há o trabalho de Wille et al. (2019) em que os extratos de *P. ostreatus*, *P. citrinopileatus*, *P. pulmonarius* e *Boletus* sp., aplicados em solo infestado com *M. incognita*, reduziu em média 70% a reprodução do nematoide.

Com relação a *P. sanguineus*, o extrato aquoso de basidiocarpos foi pulverizado semanalmente nas folhas de tomateiro três dias antes da inoculação com *M. javanica*, que resultou em até 90% de controle, claramente indicando o potencial indutor de resistência desse fungo (BARBOSA et al., 2021).

Nos ensaios de indução de resistência houve incremento na atividade da peroxidase na interação MicroTom – *M. javanica*, que ocorreu sete dias após os tratamentos (ou quatro dias após a inoculação). A peroxidase participa de vários processos fisiológicos como a síntese de lignina, produção de algumas fitoalexinas e reação de hipersensibilidade (TAIZ; ZEIGER, 2013), o que pode explicar a redução no número de galhas e número de ovos + J2 por grama de raiz nessa interação. Nematoides formadores de galha do gênero *Meloidogyne* são endoparasitas sedentários e biotróficos, que dependem de células nutridoras, induzidas pelos mesmos, para sua alimentação e sobrevivência. As formas infectantes J2 penetram e migram intercelularmente através da raiz até a zona de divisão celular, onde células do parênquima vascular são selecionadas para formar o sítio de alimentação (FULLER, LILLEY e URWIN, 2008). Dessa forma, qualquer processo de lignificação das paredes celulares, resultante de uma maior atividade de peroxidase, bem como a deposição de suberina e calose, poderiam restringir a migração do nematoide no processo inicial de penetração, reduzindo o número de infecções nas raízes (SATO, KADOTA e SHIRASU, 2019).

Ao contrário do observado para peroxidase, para polifenoloxidase houve redução de 72% a 78% na atividade enzimática no tomateiro tratado com as frações proteicas de *P. sanguineus* (Figura 1B). Esse efeito de supressão enzimática já foi observado em soja e sorgo tratados com extrato aquoso de *P. sanguineus* em ensaios para indução das fitoalexinas gliceolina e deoxiantocianidinas, respectivamente (PEITER-BENINCA et al., 2008). As polifenoloxidases transformam fenóis em quinonas, que são tóxicas a microrganismos fúngicos e bacterianos (STANGARLIN et al., 2011), que não é o caso deste trabalho com nematoides, do Reino Animalia.

A resposta de hipersensibilidade (RH) é outro mecanismo que poderia estar envolvido na redução da população de *M. javanica* em tomateiro MicroTom tratado com a fração proteica II de *P. sanguineus*. A RH, que é um tipo de resistência bem caracterizada para tomateiro contendo o gene *Mi-1*, ocorre rapidamente após a invasão da raiz pelo nematoide (SATO, KADOTA e SHIRASU, 2019), e é caracterizada pela geração de espécies reativas de oxigênio nas células associadas com os J2, impedindo que o sítio de alimentação seja estabelecido, resultando na saída do nematoide da raiz ou na sua morte (MELILLO et al., 2006). Nessa interação, a geração das espécies reativas de oxigênio peróxido de hidrogênio e radical superóxido ainda está sendo estudada pelo nosso grupo de pesquisa através de análises histológicas.

Outros mecanismos de defesa poderiam ainda estar naturalmente envolvidos no controle de nematoides, incluindo os chamados anti-nematode phytochemicals, atuando em pré (phytoanticipins) e pós penetração (phytoalexins), geralmente produtos do metabolismo secundário das plantas como phenolic compounds, terpenoids, saponins (as α -tomatine), benzoxazinoids, organosulfur compounds, alkaloids, and glucosinolates (este último para plantas da família Brassicacea) (DESMEDT et al., 2020), além de inibidores de proteinases, que são frequentemente induzidos em plantas por injúria e por herbivoria, e lectinas, como Concanavalina-A (FULLER, LILLEY e URWIN, 2008), que são proteínas ou glicoproteínas que podem ser reconhecidas e ligadas de maneira permanente a glucanase específicas de nematoides.

6. CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho indicaram o potencial nematostático e nematicida do extrato aquoso não fracionado e dos cortes etanólicos provenientes de basidiocarpos de *P. sanguineus* contra *M. javanica* e *M. incognita*. No entanto, nos ensaios de indução de resistência, houve controle apenas na interação *M. javanica* - tomateiro Micro-Tom, o que pode ter ocorrido pela ativação da enzima peroxidase pelas frações proteicas II e V.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, P., FAVERY, B., ROSSO, M.N., CASTAGNONE-SERENO, P. Parasitismo de nematoides da raiz e resposta do hospedeiro: base molecular de uma interação sofisticada. **Molecular Plant Pathology**, v. 4, n. 4, p. 217-224, 2003.

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5. ed. Amsterdam. Elsevier Academic Press. 2005. p 3-45.

AGROFIT. **Sistemas de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 27 dez. 2021.

AKRAM, A.; ONGENA, M.; DUBY, F.; DOMMES, J.; THONART, P. Systemic resistance and lipoxygenase-related defence response induced in tomato by *Pseudomonas putida* strain BTP1. **BMC Plant Biology**, v. 8, n. 113, p. 1-12, 2008.

AKSHAYA, S.B.; KRISHNAMOORTHY, A.S.; NAKKEERAN, S.; POORNIMA, K.; SIVAKUMAR, U. Inhibitory potential of ethyl acetate extract from mushrooms against root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v.9, n.1, p.528-534, 2021.

ALENCAR, M. S. R.; SOLINO, A. J. D. S.; OLIVEIRA, J. S. B.; PASCHOLATI, S. F.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Induction of defense mechanisms in tomato plants by saprobic fungi filtrates against early blight disease. **Revista Caatinga**, v. 33, p. 671-678, 2020.

ALI, M. A.; AZEEM, F.; LI, H.; BOHLMANN, H. Smart parasitic nematodes use multifaceted strategies to parasitize plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1699, 2017.

ARIE, T.; TAKAHASHI, H.; KODAMA, M.; TERAOKA, T. Tomato as a model plant for plant-pathogen interactions. **Plant Biotechnology**, v. 24, n. 1, p. 135-147, 2007.

ASIF, M.; KHAN, F.; ANSARI, T.; AHMAD, F.; TARIQ, M.; KHAN, A.; AHMED, W. Elicitation of resistance through the exploration of acibenzolar-S-methyl (ASM) against *Meloidogyne incognita* in tomato under salt stress condition. **Environmental Sustainability**, v. 3, n. 3, p. 313-318, 2020.

ASSI, L.; MEINERZ, C.C.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; VIECELLI, C.A.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Control of *Alternaria solani* and *Xanthomonas vesicatoria* in tomato by *Pycnoporus sanguineus* formulated extract. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 16, n. 3, p. 314-320, 2017.

ATTIA, M. M. R. Induction of systemic resistance in tomato plants against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Passe-Muraille) with β -amino butyric acid. **Journal of Plant Protection and Pathology**, v. 10, n. 11, p. 497-503, 2019.

AZEVEDO, L. H.; MOREIRA, M. F. P.; PEREIRA, G. G.; BORGES, V.; DE MORAES, G. J.; INOMOTO, M. M.; PALEVSKY, E. Combined releases of soil predatory mites and provisioning of free-living nematodes for the biological control of root-knot nematodes on 'Micro Tom tomato'. **Biological Control**, v. 146, p. 104280, 2020.

BACHA, H.; TEKAYA, M.; DRINE, S.; GUASMI, F.; TOUIL, L.; ENNEB, H.; FERCHICHI, A. Impact of salt stress on morpho-physiological and biochemical parameters of *Solanum lycopersicum* cv. Microtom leaves. **South African Journal of Botany**, v. 108, p. 364-369, 2017.

BAERMANN, G. Eine einfache methode zur auffindung von Ankylostomum (Nematoden) larven in erdproben. **Nederlandsch Indie**, v. 57, n. 1, p. 131-137, 1917.

BALDO, M.; STANGARLIN, J.R.; FRANZENER, G.; ASSI, L.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Detecção *in situ* de espécies reativas de oxigênio em feijoeiro tratado com extratos de *Pycnoporus sanguineus* e inoculado com *Colletotrichum lindemuthianum*. **Summa Phytopathologica**, v. 37, p. 174-179, 2011.

BARBOSA, J.A.; RAMOS, D.D.; RINALDI, L.K.; STANGARLIN, J.R.; FIORENTIN, F. *Pycnopus sanguineus* extract in the control of *Meloidogyne javanica* in tomato. **Ensaio e Ciência**, v.25, n.5, p.783-787, 2021.

BARROS, F. C.; SAGATA, E.; FERREIRA, L. C. C.; JULIATTI, F. C. Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 2, p. 231-239, 2010.

BARSANTI, L.; COLTELLI, P.; GUALTIERI, P. Paramylon treatment improves quality profile and drought resistance in *Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom. **Agronomy**, v. 9, n. 7, p. 394, 2019.

BLANC-MATHIEU, R.; PERFUS-BARBEOCH, L.; AURY, J. M.; DA ROCHA, M.; GOUZY, J.; SALLET E.; DANCHIN, E. G. J. Hybridization and polyploidy enable genomic plasticity without sex in the most devastating plant-parasitic nematodes. **PLoS Genetics**, v. 13, n. 6, p.1-36, 2017.

BOHLMANN, H.; SOBCZAK, M. The plant cell wall in the feeding sites of cyst nematodes. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 3, p. 1–11, 2014.

BOITEUX, L. S.; PINHEIRO, J. B.; FONSECA, M. Manejo de nematoides do gênero *Meloidogyne* no cultivo do tomateiro via resistência genética: avanços, obstáculos e perspectivas. In: **Embrapa Hortaliças-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 36, 2019, Caldas Novas. Nematoides: da Ciência ao Campo.[Anais, palestras e resumos]. Campinas: Infobibos. 2019.

BOITEUX, L., FONSECA, M., REIS, A., LIMA, M., & PINHEIRO, J. Tomateiro híbrido multitolerante BRS Nagai vai bem no cultivo orgânico. **Revista Campo e Negócios**, Uberlândia, 2018. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1100351/1/digitalizar0126.pdf>. Acesso em 9 jan. 2022.

BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.6, n.3, p.553, 1981.

BRADFORD, M. A. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

BRITO, O. D. C.; PUERARI, H. H.; HERNANDES, I.; FERREIRA, J. C. A.; CARDOSO, M. R.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Métodos de aplicação e concentrações de acibenzolar-S-metil no manejo de *Meloidogyne javanica* em soja. **Nematropica**, v. 46, n. 1, p. 106-113, 2016.

BUA-ART, S.; SAKSIRIRAT, W.; HIRANSALEE, A.; KANOKMEDHAKUL, S.; LEKPHROM, R. Effect of bioactive compound from luminescent mushroom (*Neonothopanus nambi* Speg.) on root-knot nematode (*Meloidogyne incognita* Chitwood) and non-target organisms. **Asia-Pacific Journal of Science and Technology**, v. 16, n. 4, p. 331-341, 2011.

CAARLS, L.; PIETERSE, C. M. J.; VAN WEES, S. C. M. How salicylic acid takes transcriptional control over jasmonic acid signaling. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1–11, 2015.

CAETANO, M.L. Vacinas, Agora para as plantas. **Campo e Negócios HF**. Agro Comunicação, v. 74. Ano VII. p. 46-52, 2011.

CAILLAUD, M. C.; LECOMTE, P.; JAMMES, F.; QUENTIN, M.; PAGNOTTA, S.; ANDRIO, E.; ENGLER, J. D. A.; MARFAING, N.; GOUNON, P., ABAD, P.; FAVERY, B. MAP65-3 microtubule-associated protein is essential for nematode-induced giant cell ontogenesis in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 20, n. 2, p. 423-437, 2008.

CAMARGO, L. E. A. Genética da interação patógeno-hospedeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. 5.ed. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. Ouro Fino: Ceres, 2018. v. 1. cap. 6, p. 85-92.

CAMPOS, M. L.; CARVALHO, R. F.; BENEDITO, V. A.; PERES, L. E. P. Small and remarkable: the Micro-Tom model system as a tool to discover novel hormonal functions and interactions. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n. 3, p. 267-270, 2010.

CAMPOS, M. L.; DE ALMEIDA, M.; ROSSI, M. L.; MARTINELLI, A. P.; LITHOLDO JUNIOR, C. G.; FIGUEIRA, A.; PEREIRA PERES, L. E. Brassinosteroids interact negatively with jasmonates in the formation of anti-herbivory traits in tomato. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 15, p. 4347-4361, 2009.

CARNEIRO, R. M. D. G. Gênero *Meloidogyne*: diagnose através de eletroforese de isoenzimas e marcadores SCAR. In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S.; **Diagnose de fitonematoides**. Campinas: Millennium Editora, 2016. p. 47-72.

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

CASTILLO, P.; VOVLAS, N. **Pratylenchus (Nematoda: Pratylenchidae)**: diagnosis, biology, pathogenicity and management. Leiden: Brill, 2007. 529p.

CHANGKWIAN, A.; VENKATESH, J.; LEE, J. H.; HAN, J. W.; KWON, J. K.; SIDDIQUE, M. I.; KANG, B. C. Physical localization of the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) resistance locus Me7 in pepper (*Capsicum annum*). **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 886, 2019.

CHAREHGANI, H. et al. Systemic induced resistance to the root-knot nematode in tomato by chemical inducers. **Journal of Agricultural Science and Technology**, V. 20, N 6 p. 1-12, 2021.

CHAURASIA, P.; BHARATI, S.; KUMAR, S. Recent studies on biotechnological roles of *Pleurotus* spp. **Journal of Biotechnology and and Bioprocessing**, v.1, n.3, p.2766-2314, 2020.

COLLINS, C.H. Princípios básicos de cromatografia. In: COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Fundamentos de Cromatografia**. Unicamp, Campinas, 2006. 17p.

COLTRO-RONCATO, S.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; GONÇALVES, E.D.V.; DILDEY, O.D.F.; RISSATO, B.B.; BROETTO, L.; HENKEMEIER, N.P.; MIORANZA, T.M.; HELING, A.L.; IURKIV, L.; FARIA, V.O.; STEFANELLO, V.V.; WEBLER, T.F.B.; Nematicidal effect of *Crambe abyssinica* leaf extracts to *Meloidogyne javanica* on tomato. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 32, p. 3004-3011, 2016.

COOLEN, W.A.; D'HERDE, C.J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Agriculture Research Centre, 1972. 77p.

CORREIA, C.; MICHEREFF, J. (2018) - Fundamentos e desafios do manejo de doenças radiculares causadas por fungos. In: Desafios do manejo de doenças radiculares causadas por fungos. 1ª ed. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, p. 1-16, 2018.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

CURTO, G., DALLAVALLE, E.; MATTEO, R.; LAZZERI, L. Biofumigant effect of new defatted seed meals against the southern root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Annals of Applied Biology**, v.169, n.1, p.17-26, 2016.

DE LEY, P.; BLAXTER, M. 2002. Systematic position and phylogeny. In: Lee, D.L. **The biology of nematodes**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press. 2002. p.1-30.

DE MEDEIROS, H. A.; DE ARAÚJO FILHO, J. V.; DE FREITAS, L. G.; CASTILLO, P.; RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2017.

DE MEDEIROS, H. A.; RESENDE, R. S.; FERREIRA, F. C.; FREITAS, L. G.; RODRIGUES, F. A. Induction of resistance in tomato against *Meloidogyne javanica* by *Pochonia chlamydosporia*. **Nematoda**, v. 2, p. e10015, 2015.

DEGENKOLB, T.; VILCINSKAS, A. Metabolites from nematophagous fungi and nematicidal natural products from fungi as alternatives for biological control. Part II: metabolites from nematophagous basidiomycetes and non nematophagous fungi. **Applied of Microbiology and Biotechnology**, v.100, p.3813-3824, 2016.

DESMEDT, W.; MANGELINCKX, S.; KYNDT, T.; VANHOLME, B. A phytochemical perspective on plant defense against nematodes. **Frontiers in Plant Science**, v.11, p.602079, 2020.

DI PIERO, R.M.; WULFF, N.A.; PASCHOLATI, S.F. Partial purification of elicitors from *Lentinula edodes* basidiocarps protecting cucumber seedlings against *Colletotrichum lagenarium*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, p.175-180, 2006.

DIAO, X., SCHNABLE, J., BENNETZEN, J. L., LI, J. Initiation of *Setaria* as a model plant. **Frontiers of Agricultural Science and Engineering**, v. 1, n. 1, p. 16-20, 2014.

DONG, J. Y.; LI, X. P.; LI, L.; LI, G. H.; LIU, Y. J.; ZHANG, K. Q. Preliminary results on nematicidal activity from culture filtrates of Basidiomycetes against the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (*Aphelenchoididae*). **Annals of microbiology**, v. 56, n. 2, p. 163-166, 2006.

DOS SANTOS SOARES, A. M.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica–Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 1, n. 1, p. 10, 2007.

DROPKIN, V. H. The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. **Phytopathology**, v.59, n.11, p.1632-1637, 1969.

DUANGMAL, K.; APENTEN, R.K.O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, v.64, n.3, p.351-359, 1999.

EISENBACK, J. D.; TRIANTAPHYLLOU, H. H. Root-knot Nematodes: *Meloidogyne* species and races. In: NICKLE, W. R, **Manual of Agricultural Nematology**. Ed. 1. New York: Marcel Dekker, 1991. p.281-286.

ELKHATEEB, W.A.; DABA, G.M.; GAZIEA, S.M. The anti-nemic potential of mushroom against plant-parasitic nematodes. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.6, n. 1, p.000186, 2021.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematoides In AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. RESENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres; 2018. p.195-214.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematoides. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5.ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. v. 1, cap. 13, p. 195-211.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. (Orgs.). **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Editora, 2016. 251 p.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, I.C.F.R.; BARROS, L.; ABREU, R.M.V. Antioxidants in wild mushrooms. **Current Medical Chemistry**, v.16, n.12, p.1543-1560, 2009.

FERREIRA, J.M.; CARREIRA, D.N.; BRAGA, F.R.; SOARES, F.E.F. First report of the nematicidal activity of *Flammulina velutipes*, its spent mushroom compost and metabolites. **3 Biotech**, v.9, p.410, 2019.

FERREIRA, P. A.; DOS SANTOS NEVES, W.; LOPES, E. A. Controle Cultural de Nematoides. In: VENZON, M.; NEVES W. S.; DE PAULA JR, T. J.; PALLINIP, A. **Controle alternativo de pragas e doenças: opção ou necessidade?** 22. ed. Belo Horizonte: EPAMIG, 2021. p. 102 – 107. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Michela-Batista/publication/355916721_Green_lacewings_and_their_role_in_pest_management/links/6184352deef53e51e12e9baf/Green-lacewings-and-their-role-in-pest-management.pdf#page=102. Acesso em: 3 jan. 2021.

FERREIRA, P. S.; TORRES, J. L. R.; DOS SANTOS, M. A.; DE OLIVEIRA PAROLINI, R.; LEMES, E. M. Host suitability of cover crops for *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*. **Nematology**, v. 22, n. 6, p. 659-666, 2020.

FRACETTO, G. G. M.; PERES, L. E. P.; LAMBAIS, M.R. Gene expression analyses in tomato near isogenic lines provide evidence for ethylene and abscisic acid biosynthesis fine-tuning during arbuscular mycorrhiza development. **Archives of Microbiology**, v. 199, n. 5, p. 787-798, 2017.

FREITAS, L.G.; NEVES, W.S.; OLIVEIRA, R.D.L. Métodos em Nematologia Vegetal. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em Fitopatologia**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2007. p. 253-291.

FULLER, V.L.; LILLEY, C.J.; URWIN, P.E. Nematode resistance. **New Phytologist**, v.180, p.27-44, 2008.

FÜRSTENBERG-HÄGG, J.; ZAGROBELNY, M.; BAK, S. Plant defense against insect herbivores. **International Journal of Molecular Sciences**, v.14, p.10242-10297, 2013.

GAYLER, S., LESER, C., PRIESACK, E., & TREUTTER, D. Modelling the effect of environmental factors on the “trade-off” between growth and defensive compounds in young apple trees. **Trees**, v. 18, n. 3, p. 363-371, 2004.

GHAHREMANI, Z.; ESCUDERO, N.; SAUS, E.; GABALDÓN, T.; SORRIBAS, F. J. *Pochonia chlamydosporia* induces plant-dependent systemic resistance to *Meloidogyne incognita*. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 945, 2019.

GILBERT, J. C.; McGUIRE, D. C. Inheritance of resistance to severe root-knot from *M. incognita* in commercial-type tomatoes. **American Society for Horticultural Science**, v.68, n.1, p.437-442, 1956.

GILL, M. Pigments of fungi (Macromycetes). **Natural Product Reports**, v.11, p.67-90, 1994.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.48, p.909-930, 2010.

GONÇALVES-TREVISOLI, E.D.V.; STANGARLIN, J.R.; RISSATO, B.B.; DILDEY, O.D.F.; COLTRO-RONCATO, S.; BROETTO, L.; MENDONÇA-MÜLLER, H.F.C.; DARTORA, J.; MEINERZ, C.C.; IURKIV, L.; MIORANZA, T.M.; UEMURA-LIMA, D.H.; WEBLER, T.F.B.; KUH, O.J. Plant defense elicitors' purification in soybean and bean from pathogenic nematode. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 49, p. 5021-5035, 2016.

GONZALEZ, C.; RÉ, M. D.; SOSSI, M. L.; VALLE, E. M.; BOGGIO, S. B. Tomato cv. 'Micro-Tom' as a model system to study postharvest chilling tolerance. **Scientia Horticulturae**, v. 184, p. 63-69, 2015.

GONZALEZ, C.; ZANOR, M. I.; RÉ, M. D.; OTAIZA, S.; ASIS, R.; VALLE, E. M.; BOGGIO, S. B. Chilling tolerance of Micro-Tom fruit involves changes in the primary metabolite levels and in the stress response. **Postharvest Biology and Technology**, v. 148, p. 58-67, 2019.

GRATÃO, P. L.; MONTEIRO, C. C.; ANTUNES, A. M.; PERES, L. E. P.; AZEVEDO, R. A. Acquired tolerance of tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Micro-Tom) plants to cadmium-induced stress. **Annals of Applied Biology**, v. 153, n. 3, p. 321-333, 2008.

HAHN, M. H.; DE MIO, L. L. M.; KUHN, O. J.; DUARTE, H. D. S. Nematophagous mushrooms can be an alternative to control *Meloidogyne javanica*. **Biological Control**, v. 138, p. 104024, 2019.

HARTMAN, K.M.; SASSER, J.N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal pattern morphology. In: BARKER, K.R.; CARTER, C.C.; SASSER, J.N. **An advanced treatise on *Meloidogyne***. Methodology, North Carolina: University Graphics, 1985. p. 69-77.

HAYASHI, M.; WADA, K.; MUNAKATA, K. New nematocidal metabolites from a fungus, *Irpex lacteus*. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 45, n. 6, p. 1527-1529, 1981.

HERNANDES, I.; BRITO, O. D. C.; CARDOSO, M. R.; FERREIRA, J. C. A.; PUERARI, H. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Acibenzolar-S-methyl on *Meloidogyne javanica* control in lettuce. **Acta Agriculturae Scandinavica, Seção B — Soil & Plant Science**, v. 67, n. 7, p. 660-664, 2017.

HIRAGA, S.; SASAKI, K.; HIROYUKI, I.; OHASHI, Y.; MATSUI, H. A large family of class III plant peroxidase. **Plant Cell Physiology**, v.42, p.462-468, 2001.

HOFFMANN, J.; BERNI, R.; SUTERA, F. M.; GUTSCH, A.; HAUSMAN, J. F.; SAFFIE-SIEBERT, S.; GUERRIERO, G. The effects of salinity on the anatomy and gene expression patterns in leaflets of tomato cv. Micro-Tom. **Genes**, v. 12, n. 8, p. 1165, 2021.

HOLBEIN, J.; GRUNDLER, F. M. W.; SIDDIQUE, S. Plant basal resistance to nematodes: an update. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 7, p. 2049–2061, 2016.

HUNT, D. J.; HANDOO, Z. A. Taxonomy, identification and principal species. **Root-knot nematodes**, v. 1, p. 55-88, 2009.

HUSSEY, R.S.; BARKER, K.R. A comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v.57, n.12, p.1025-1028, 1973.

IBIANG, Y. B.; INNAMI, H.; SAKAMOTO, K. Effect of excess zinc and arbuscular mycorrhizal fungus on bioproduction and trace element nutrition of tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom). **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 64, n. 3, p. 342-351, 2018.

IRITI, M.; FAORO, F. Does benzothiadiazole-induced resistance increase fitness cost in bean? **Journal of Plant Pathology**, Bari, v.85, n.4, p.265-270, 2003.

ISHIZAKI, T.; NOMURA, N.; WATANABE, K. Screening of mushrooms for nematophagous activity against the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. **Nematological Research (Japanese Journal of Nematology)**, v. 45, n. 1, p. 19-25, 2015.

KANG, D. S.; MIN, K.J.; KWAK, A.M.; LEE, S.Y.; KANG, H.W. Defense response and suppression of phytophthora blight disease of pepper by water extract from spent mushroom substrate of *Lentinula edodes*. **The Plant Pathology Journal**, v. 33, n. 3, p. 264, 2017.

KARSSSEN, G.; MOENS, M. Root-knot nematodes. In: Perry, R.L., & Moens, M. (eds). **Plant Nematology**. Cambridge: CABI North America Office, 2009. p.59-90.

KUHN, O. J.; PASCHOLATI, S. F. Custo adaptativo da indução de resistência em feijoeiro mediada pela rizobactéria *Bacillus cereus* ou acibenzolar-S-metil: atividade de enzimas, síntese de fenóis e lignina e biomassa. **Summa Phytopathologica**, v. 36, p. 107-114, 2010.

KWOK, O. C. H.; PLATTNER, R.; WEISLEDER, D.; WICKLOW, D. T. A nematicidal toxin from *Pleurotus ostreatus* NRRL 3526. **Journal of Chemical Ecology**, v. 18, n. 2, p. 127-136, 1992.

LAZZARINI, L.E.S.; PACHECO, F.V.; SILVA, S.T.; COELHO, A.D.; MEDEIROS, A.P.R.; BERTOLUCCI, S.K.V.; PINTO, J.E.B.P; SOARES, J.D.R. Uso de diodos emissores de luz (LED) na fisiologia de plantas cultivadas. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 16, n. 2, p. 137-144, 2017.

LI, G.; ZHANG, K.; XU, J.; DONG, J.; LIU, Y. Nematicidal substances from fungi. **Recent Patents on Biotechnology**, v. 1, n. 3, p. 212-233, 2007.

LI, Y.; XIAO, J.; CHEN, L.; HUANG, X.; CHENG, Z.; HAN, B.; ZHANG, Q.; WU, C. Rice functional genomics research: past decade and future. **Molecular Plant**, v. 11, n. 3, p. 359-380, 2018.

LIRA, V. L.; DA COSTA, A. F.; DE MOURA, R. M.; MAIA, L. C. *Rotylenchulus reniformis* (Nematoda: Tylenchida): biologia, identificação, patogenicidade e manejo. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 15, n. 2, p. 91-102, 2018.

LIU, J. H.; WANG, L.; QIU, J. Y.; JIANG, L. L.; YAN, J. Y.; LIU, T.; DUAN, Y. X. Nematicidal activity of *Gymnoascus reesii* against *Meloidogyne incognita*. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 18, p. 2715-2719, 2011.

LOGEMANN, E.; WU, S. C.; SCHRÖDER, J.; SCHMELZER, E.; SOMSSICH, I. E.; HAHLBROCK, K. Gene activation by UV light, fungal elicitor or fungal infection in *Petroselinum crispum* is correlated with repression of cell cycle-related genes. **The Plant Journal**, v. 8, n. 6, p. 865-876, 1995.

ŁUKASIK, I.; GOŁAWSKA, S.; WÓJCICKA, A. Effect of cereal aphid infestation on ascorbate content and ascorbate peroxidase activity in triticale. **Polish Journal of Environmental Studies**, v.21, p.1937-1941, 2012.

LUO, H.; MO, M.; HUANG, X.; LI, X.; ZHANG, K. *Coprinus comatus*, a basidiomycete fungus forms novel spiny structures and infects nematode. **Mycologia**, v.96, p.1218-1225, 2004.

LUSSO, M.F.G.; PASCHOLATI, S.F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**, v.25, p. 244-249, 1999.

MACHADO, A.C.Z. Nematoides devastam lavouras de soja. **Revista Campo e Negócio**, 2015. Disponível em: <<http://www.revistacampoenegocios.com.br/nematoides-devastam-lavouras-de-soja>>. Acesso em: 27 mar. 2018.

MANNUCCI, A.; MARIOTTI, L.; CASTAGNA, A.; SANTIN, M.; TRIVELLINI, A.; REYES, T. H.; ... QUARTACCI, M. F. Hormone profile changes occur in roots and leaves of Micro-Tom tomato plants when exposing the aerial part to low doses of UV-B radiation. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 148, p. 291-301, 2020.

MARINO, R.H.; DA SILVA, D.G.C. Control of root-knot nematode by *Pleurotus ostreatus* in lettuce. **Scientia Plena**, v.9, p.100202, 2013.

MARTINAZZO-PORTZ, T. **Formulação de substrato para produção de basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus***. Marechal Cândido Rondon, 2011.

Dissertação (Mestrado em Agronomia). UNIOESTE – Universidade Estadual do Oeste do Paraná. 80p.

MARTÍNEZ-MEDINA, A.; FERNANDEZ, I.; LOK, G. B.; POZO, M.J.; PIETERSE, C. M.; VAN WEES, S. C. Shifting from priming of salicylic acid-to jasmonic acid-regulated defences by *Trichoderma* protects tomato against the root knot nematode *Meloidogyne incognita*. **New phytologist**, v. 213, n. 3, p. 1363-1377, 2017.

MASHEVA, S.; YANKOVA, V.; TOSKOV, G. Plant species screening for biofumigant activity against soil-borne pathogens and root-knot nematodes. **Agricultural Science and Technology**, v.4, p.139-142, 2012.

MEISSNER, R.; JACOBSON, Y.; MELAMED, S.; LEVYATUV, S.; SHALEV, G.; ASHRI, A.; ELKIND, Y.; LEVY, A. A new model system for tomato genetics. **The Plant Journal**, v.12, p.1465–1472, 1997.

MELILLO, M.T.; LEONETTI, P.; BONGIOVANNI, M.; CASTAGNONE-SERENO, P.; BLEVE-ZACHEO, T. Modulation of reactive oxygen species activities and H₂O₂ accumulation during compatible and incompatible tomato-root-knot nematode interactions. **New Phytologist**, v.170, p.501–512, 2006.

MELO, T. A. D.; SERRA, I. M. R. D. S.; SILVA, G. S. D.; SOUSA, R. M. S. D. Produtos naturais aplicados para manejo de *Meloidogyne incognita* em tomateiros. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 3, p. 223-227, 2012.

MIAMOTO, A.; CALANDRELLI, A.; RINALDI, L. K.; SILVA, M. T. R. E.; MIORANZA, T. M.; SANTANA-GOMES, S. D. M.; DIAS-ARIEIRA, C. R. *Macrotyloma axillare* ‘Java’ and *Crotalaria* spp. combined with biocontrol agents for the management of *Meloidogyne javanica* in soybean. **Journal of Phytopathology**, v. 169, n. 11-12, p. 757-765, 2021.

MICHEREFF, S. J. **Fundamentos de Fitopatologia**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, 2001. 172 p.

MOENS, M.; PERRY, R. N.; STARR, J. L. *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important plant parasites. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. eds. **Root-knot Nematodes**. Wallingford, UK: CAB International, p. 1–17. 2009.

MOLINARI, S.; BASER, N. Induction of resistance to root-knot nematodes by SAR elicitors in tomato. **Crop Protection**, v. 29, n. 11, p. 1354-1362, 2010.

MOSAHANEH, L.; CHAREHGANI, H.; ABDOLLAHI, M.; REZAEI, R. Biological control agents in the management of different initial population densities of *Meloidogyne javanica* in tomato. **Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica**, v. 55, n. 2, p. 151-159, 2021.

MOSTAFA, D. M.; ALLAH, S. F. A.; AWAD-ALLAH, E. F. Potential of *Pleurotus sajor-caju* compost for controlling *Meloidogyne incognita* and improve nutritional status of tomato plants. **Power**, v. 2, p. 4, 2019.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v.1054, n.1/2, p.95-111, 2004.

NERIMAN, K. U. R. T.; AŞKIN, M. A. RESEARCHS ON THE EFFECTS OF THE MARIGOLD (*Tagetes* spp.) On the management of root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*) in nurseries. **International Journal of Agriculture Forestry and Life Sciences**, v. 2, n. 2, p. 56-61, 2018.

NOBLES, M.K.; FREW, B.P. Studies in wood-inhabiting hymenomycetes: v. The genus *Pycnoporus* karst. **Canadian Journal of Botany**, v.40, n.7, p.987-1016, 1962.

NYAKU, S. T.; SRIPATHI, V. R.; KANTETY, R. V.; CSEKE, S. B.; BUYARAPU, R.; MC EWAN, R.; SHARMA, G. C. Characterization of the reniform nematode genome by shotgun sequencing. **Genome**, v. 57, n. 4, p. 209-221, 2014.

NYAKU, S. T.; SRIPATHI, V. R.; LAWRENCE, K.; SHARMA, G. Characterizing repeats in two whole-genome amplification methods in the reniform nematode genome. **International Journal of Genomics**, v. 2021, n.1, p. 1-8, 2021.

OOSTENBRINK, M. **Major characteristics of the relation between nematodes and plants**. Wageningen: H. Veenman & Zonen. 1966. 48p.

PALIZI, P.; GOLTAPPEH, E. M.; POURJAM, E.; SAFAIE, N. Potential of oyster mushrooms for the biocontrol of sugar beet nematode (*Heterodera schachtii*). **Journal of Plant Protection Research**, v. 49, p. 27–33, 2009.

PARROTTA, L.; ALOISI, I.; FALERI, C.; ROMI, M.; DEL DUCA, S.; CAI, G. Chronic heat stress affects the photosynthetic apparatus of *Solanum lycopersicum* L. cv Micro-Tom. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 154, p. 463-475, 2020.

PASCHOLATI, S. F.; DALIO, R. J. D. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem do patógeno. In AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. RESENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. Quinta edição. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 2018. v.1, cap.35, p.423-452.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In.: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 417-452.

PEITER-BENINCA, C.; FRANZENER, G.; ASSI, L. IURKIV, L.; ECKSTEIN, B.; COSTA, V.C.; NOGUEIRA, M.A., STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Indução de fitoalexinas e atividade de peroxidases em sorgo e soja tratados com extratos de basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, n.3, p.285-292, 2008.

PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. **Root-knot Nematodes**. CABI International, 2009. 488 p.

PINHEIRO, J. B. **Nematoides em Hortaliças**. 1ª Ed. Brasília: Embrapa, 2017. 193p.

PINHEIRO, J. B.; DE CASTRO, R. A.; RAGASSI, M. C. F. **Manejo de nematoides em hortaliças sob plantio direto**. Circular Técnica, Embrapa, Brasília, v.171, n.1, p.22, 2019.

PINHEIRO, J. B.; PEREIRA, R. B.; SUINAGA, F. A. **Manejo de nematoides na cultura do tomate**. Circular Técnica, Embrapa, Brasília, v.132, n.1, p.12, 2014b.

PINO, L. E.; LOMBARDI-CRESTANA, S.; AZEVEDO, M. S.; SCOTTON, D. C.; BORGIO, L.; QUECINI, V.; PERES, L. E. The Rg1 allele as a valuable tool for genetic transformation of the tomato 'Micro-Tom' model system. **Plant Methods**, v. 6, n. 1, p. 1-11, 2010.

PUERARI, H. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; CARDOSO, M. R.; HERNANDES, I.; BRITO, O. D. C. Resistance inducers in the control of root lesion nematodes in resistant and susceptible cultivars of maize. **Phytoparasitica**, v. 43, n. 3, p. 383-389, 2015.

RANDHAWA, N.; SHARMA, S. K. Control of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in nursery beds of tomato by soil amendment with *Brassica rapa*, *Brassica juncea*, *Brassica napus* and *Eruca sativa* plants. **Pakistan Journal of Nematology**, v.26, n.1, p.91-95, 2008.

RANJAN, A.; ICHIHASHI, Y.; SINHA, N. R. The tomato genome: implications for plant breeding, genomics and evolution. **Genome Biology**, v. 13, n. 8, p. 1-8, 2012.

SALGADO, S. M. L.; RESENDE, M. L. V.; CAMPOS, V. P. Efeito de indutores de resistência sobre *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1007-1013, 2007.

SANTANA-SANTOS, I.V.; CHAVES-SILVA, N.E.; AMÂNCIO, L.H.S.; SANTOS, W.B.; VIÉGAS, P.R.A.; MARINO, R.H. Edible fungi and native microbiota in the control of gall-forming nematodes. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.15, n.2, e9301, 2022.

SATO, K.; KADOTA, Y.; SHIRASU, K. Plant immune responses to parasitic nematodes. **Frontiers in Plant Science**, v.10, p.1165, 2019.

SERRANI, J. C.; FOS, M.; ATARÉS, A.; GARCÍA-MARTÍNEZ, J. L. Effect of gibberellin and auxin on parthenocarpic fruit growth induction in the cv Micro-Tom of tomato. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 26, n. 3, p. 211-221, 2007.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects, applications**. Lancaster: Technomic, 1995. 331p.

SIERRO, N.; BATTEY, J. N.; OUADI, S.; BAKAHER, N.; BOVET, L.; WILLIG, A.; GOEPFERT, S.; PEITSCH M. C.; IVANOV, N. V. The tobacco genome sequence and its comparison with those of tomato and potato. **Nature Communications**, v. 5, n. 1, p. 1-9, 2014.

SIKORA, R.A., COYNE, D., HALLMANN, J., TIMPER, P. **Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**. 3.ed. Cabi, Oxfordshire OX10 8DE UK 2018. 887p.

SILVA, J. C. P.; TERRA, W. C.; BARROS, A. F.; CAMPOS, V. P. **Compostos orgânicos voláteis no controle de fitonematoides**. 1. ed. Lavras: UFLA, 2019. 110p.

SILVA, R. F.; PASCHOLATI, S. F.; BEDENDO, I. P. Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 189-196, 2007.

SILVA, R. F.; PASCHOLATI, S. F.; BEDENDO, I. P. Induced resistance in tomato plants to *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* by *Lentinula edodes* and *Agaricus subrufescens* (syn. *Agaricus brasiliensis*). **Journal of Plant Pathology**, p. 285-297, 2013.

SILVA-JUNIOR, G. J.; BEHLAU, F. Controle químico. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2018. v. 1, cap. 16, p. 239-260.

SIVANANDHAN, S.; KHUSRO, A.; PAULRAJ, M. G.; IGNACIMUTHU, S.; AL-DHABI, N. A. Biocontrol properties of basidiomycetes: An overview. **Journal of Fungi**, v. 3, n. 1, p. 2, 2017.

SMITH, C.J. Accumulation of phytoalexins: defence mechanism and stimulus response system. **New Phytologist**, v. 132, n. 1, p. 1-45, 1996.

SOARES, F.E.F.; NAKAJIMA, V.M.; SUFIATE, B.L.; SATIRO, L.A.S.; GOMES, E.H.; FRÓES, F.V.; SENA, F.P.; BRAGA, F.R.; QUEIROZ, J.H de. Proteolytic and nematicidal potential of the compost colonized by *Hypsizygus marmoreus*. **Experimental Parasitology**, v.197, p.16-19, 2019.

SOARES, M. R. C.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Induction of resistance to *Meloidogyne graminicola* in rice. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 43, n. 1, p. 108-117, 2021.

SOLIMAN, G.; ELKHATEEB, W.; WEN, T.C.; DABA, G. Mushrooms as efficient biocontrol agents against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Egyptian Pharmaceutical Journal**, v.21, n.1, p.68-74, 2022.

STADLER, M.; MAYER, A.; ANKE, H.; STERNER, O. Fatty acids and other compounds with nematicidal activity from cultures of Basidiomycetes. **Planta Medica**, v. 60, n. 02, p. 128-132, 1994.

STANGARLIN, J. R.; VIECELLI, C. A.; KUHN, O. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; ASSI, L.; PORTZ, R. L.; MEINERZ, C. C. Plant defense enzymes activated in bean plants by aqueous extract from *Pycnoporus sanguineus* fruiting body. **Plant Science**, p. 153-169, 2012.

STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; TOLEDO, M.V.; PORTZ, R.L.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; PASCHOLATI, S.F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Candido Rondon, v.10, n., p.18-46, 2011.

STEFANELO, D.R.; CARES, J.E. Gênero *Tylenchulus*. In: OLIVEIRA, C.M.G.; SANTOS, M.A.; CASTRO, L.H.S. (eds). **Diagnose de Fitonematoides**. 1ed. Campinas: Editora Millenium. 2016. p. 209-219.

SUFIAE, B.L.; SOARES, F.E.F.; MOREIRA, S.S.; GOUVEIA, A.S.; MONTEIRO, T.S.A.; FREITAS, L.G.; QUEIROZ, J.H. Nematicidal action of *Pleurotus eryngii* metabolites. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.12, n.1, p.216-219, 2017.

SUN, H. J.; UCHII, S.; WATANABE, S.; EZURA, H. A highly efficient transformation protocol for Micro-Tom, a model cultivar for tomato functional genomics. **Plant and Cell Physiology**, v. 47, n. 3, p. 426-431, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5.ed. Porto Alegre:Artemed, 2013. 954p.

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

THEMUHI, M.; SHANTHI, A.; KRISHNAMOORTHY, A. S.; SWARNAKUMARI, N.; AMIRTHAM, D. *In vitro* screening of macro basidiomycetous fungi against root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 8, n. 6, p. 641-644, 2020.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, p.372, 1993.

TOILLIER, S.L.; IURKIV, L.; MEINERZ, C.C.; BALDO, M.; VIECELLI, C.A.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. Control of bacterial blight (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) and biochemical analyses of bean resistance treated with *Pycnoporus sanguineus* extracts. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.1, p. 99-110, 2010.

TOMATO GENOME CONSORTIUM, X. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. **Nature**, v. 485, n. 7400, p. 635-641, 2012.

TRIANAPHYLLOU, A. C. Cytogenetics, cytotaxonomy and phylogeny of root-knot nematodes. In: SASSER, J. N. CARTER, C. C. **An advanced treatise on *Meloidogyne***. 1ed. Raleigh: North Carolina State University Graphics. 1985. p. 113–126

TRIANAPHYLLOU, A. C. Oogenesis and the chromosomes of the parthenogenic root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, v. 13, n. 2, p. 95, 1981.

TUNES, C. D.; GONÇALVES, V. P.; RODRIGUES, D. B.; DA SILVA ALMEIDA, A.; MENESES, P. R. Resistência de tomateiros mutantes para tricomas contra patógenos foliares. **Magistra**, v. 30, p. 104-112, 2019.

UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, v.34, n.1, p.68-71, 2006.

VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE, C. M. J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, v. 36, n. 1, p. 453-483, 1998.

VERDEJO-LUCAS, S.; TALAVERA, M.; ANDRÉS, M. F. Virulence response to the Mi. 1 gene of *Meloidogyne* populations from tomato in greenhouses. **Crop Protection**, v.39, p.97-105, 2012.

VIECELLI, C.A.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Indução de resistência em feijoeiro por filtrado de cultura de *Pycnoporus sanguineus* contra *Pseudocercospora griseola*. **Tropical Plant Pathology**, v.34, n.2, p.87-96, 2009.

VIECELLI, C.A.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Indução de resistência em feijoeiro à mancha angular por extratos de micélio de *Pycnoporus sanguineus*. **Summa Phytopathologica**, v.36, p.73-80, 2010.

VIGILA, V.; SUBRAMANIAN, S.; DEVRAJAN, K. PGPR induced systemic resistance in tomato plants against root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Journal Pharmacognosy Phytochemistry**, v. 8, n. 2S, p. 749-752, 2019.

VILJOEN, J. J.; LABUSCHAGNE, N.; FOURIE, H.; SIKORA, R. A. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomatoes and carrots by plant growth-promoting rhizobacteria. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, n. 3, p. 284-291, 2019.

WATTS, V. M. The use of *Lycopersicon peruvianum* as a source of nematode resistance in tomatoes. **Proceedings of American Society of Horticultural Science**, v.49, n.1, p.233-234, 1947.

WILLE, C.N.; GOMES, C.B.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J.S. Potential of aqueous extracts of basidiomycetes to control root-knot nematodes on lettuce. **Horticultura Brasileira**, v.37, p.054-059, 2019.

WILLIAMSON, V. M. Root-knot nematode resistance genes in tomato and their potential for future use. **Annual Review Phytopathology**, v.36, n.1, p.277-293, 1998.

WILLIAMSON, V. M.; HUSSEY, R. S. Nematode pathogenesis and resistance in plants. **The Plant Cell**, 8, n. 10, p. 1735, 1996.

WYSS, U.; GRUNDLER, F. M. W.; MUNCH, A. The parasitic behaviour of second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita* in roots of *Arabidopsis thaliana*. **Nematologica**, v. 38, n. 1-4, p. 98-111, 1992.

YU, C.M.; MUN, S.; WANG, N.H.L. Theoretical analysis of the effects of reversible dimerization in size exclusion chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.1132, n.1, p.99-108, 2006.

ZHAN, L. P.; PENG, D. L.; WANG, X. L.; KONG, L. A.; PENG, H.; LIU, S. M.; LIU, Y.; HUANG, W. K. Priming effect of root-applied silicon on the enhancement of induced resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* in rice. **BMC Plant Biology**, v. 18, n. 1, p. 1-12, 2018.

ZIGLIO, A. C.; SARDELA, M. R.; GONÇALVES, D. Wettability, surface free energy and cellulose crystallinity for pine wood (*Pinus* sp.) modified with chili pepper extracts as natural preservatives. **Cellulose**, v. 25, n. 10, p. 6151-6160, 2018.