

UNIOESTE
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

BRUNA CAROLINE SCHONS

INTERAÇÃO ENTRE GENÓTIPOS DE QUINOA E *Pratylenchus brachyurus*

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PR

2024

BRUNA CAROLINE SCHONS

INTERAÇÃO ENTRE GENÓTIPOS DE QUINOA E *Pratylenchus brachyurus*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual do Oeste Paraná, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Agronomia

Orientador: Prof. Dr. Claudio Yuji Tsutsumi

Co orientador: Prof. Dr. José Renato Stangarlin

Linha de pesquisa: Fitossanidade e controle alternativo

MARECHAL CÂNDIDO RONDON-PR

2024

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

Schons, Bruna Caroline
Interação entre genótipos de quinoa e *Pratylenchus brachyurus*. / Bruna Caroline Schons; orientador Claudio Yuji Tsutsumi; coorientador José Renato Stangarlin. -- Marechal Cândido Rondon, 2024.
59 p.

Tese (Doutorado Campus de Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2024.

1. Nematologia. 2. Fitopatologia. 3. Quinoa. 4. Resistência. I. Tsutsumi, Claudio Yuji, orient. II. Stangarlin, José Renato, coorient. III. 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.



BRUNA CAROLINE SCHONS

*Interação entre genótipos de quinoa e *Pratylenchus brachyurus**

Tese apresentada 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 - Claudio Yuji Tsutsumi

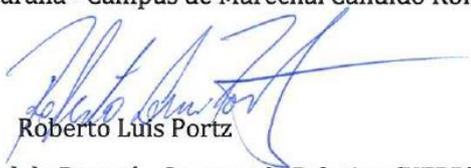
Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)


Odair José Kuhn

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


Edmar Soares de Vasconcelos

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


Roberto Luís Portz

Universidade Federal do Paraná - Campus de Palotina (UFPR)


Vivian Carre Missio

Universidade Federal do Paraná - Campus de Palotina (UFPR)

Marechal Cândido Rondon, 8 de fevereiro de 2024

Quando se tem apoio,
o impossível passa a ser possível.
A minha família, dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente tenho muito a agradecer aos meus pais, Eliane Benitez e Valdecir Schons, que me apoiaram durante todos esses anos de vida acadêmica, foram meu amparo e minha força em momentos de dificuldade e sempre me incentivaram a ir em busca dos meus sonhos.

Ao meu noivo, Erik Henrique de Oliveira Mendes, que além do suporte emocional, participou efetivamente de cada parte desse projeto, envolvendo-se como se fosse dele. Se não fosse por toda sua ajuda, esse processo teria sido muito mais difícil. A ele tenho imensa gratidão pelo companheirismo, apoio e por lembrar-me constantemente de que eu sou capaz.

Ao meu orientador Prof. Dr. Claudio Tsutsumi, ao qual me acolheu, sempre estando disposto a ajudar quando necessário e pela parceria acadêmica que já se perdura há alguns anos. Ao qual possuo imensa admiração.

Ao meu coorientador Prof. Dr. José Renato Stangarlin, tenho tanto a agradecer, foram tantos momentos de conversa, apoio e incentivo, agradeço por continuar acreditando em mim ao longo dos anos. Agradeço também pela paciência, com seu jeito calmo, me ensinou muito mais que apenas aspectos acadêmicos.

Ao Prof. Dr. Odair José Kuhn, que me passou grande conhecimento, ajudou-me em vários momentos, sempre solicito a quem o procura.

Agradeço também aos membros da banca Roberto Luiz Portz e Vivian Carré Missio, por aceitarem participar e trazerem suas contribuições para este trabalho.

Deixo meu agradecimento também aos demais professores e funcionários da Unioeste, por fazerem desta universidade meu segundo lar por tantos anos. E um agradecimento especial a todos do Laboratório de Nematologia e do Laboratório de Fitopatologia da Unioeste, assim como aos membros do Cobalfi.

A Unioeste e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade de cursar um programa de doutorado.

À Comissão de Aperfeiçoamento Pessoal do Nível Superior– CAPES pela concessão de bolsa de estudos.

A todos que de alguma forma participaram da realização deste estudo.

Muito obrigada!

“Se você pode sonhar,
você pode realizar”.

Walt Disney

RESUMO

SCHONS, Bruna Caroline. **Interação entre genótipos de quinoa e *Pratylenchus brachyurus*.**

Orientador: Prof. Dr. Claudio Yuji Tsutsumi

Coorientador: Prof. Dr. José Renato Stangarlin

A quinoa é uma planta muito rica em nutrientes tanto para alimentação humana, como para a formulação de ração animal, sendo uma opção viável para rotação de culturas. Com relação à interação quinoa – patógenos, não se tem muitos estudos com esta planta. Com isso, o objetivo desse trabalho foi caracterizar a resistência de genótipos de quinoa ao nematoide *Pratylenchus brachyurus*, verificar os mecanismos de defesa vegetal envolvidos e determinar a quantidade ideal de inóculo para futuros estudos com esse patossistema. Para isso, foi realizado um experimento em casa de vegetação com 10 genótipos de quinoa, que foram inoculados com *P. brachyurus* aos 30 dias após a germinação. As variáveis analisadas aos 45 dias após a inoculação foram: número total de nematoide por vaso, nematoides por grama de raiz e fator de reprodução. 7 dos 10 genótipos testados demonstraram resistência, 2 demonstram baixo grau de suscetibilidade e um demonstrou-se altamente suscetível. Foram selecionados para o próximo experimento um genótipo resistente, um com baixo grau de suscetibilidade e um com alto, para verificar seu comportamento em diferentes níveis populacionais e definir o nível de inóculo ideal para este patossistema. As populações iniciais testadas foram 250, 500, 1.000, 2.000 e 4.000 nematoides por vaso. Os genótipos demonstraram que o ponto de máxima população inicial ficou entre 1.000 e 2.000 nematoides por vaso. Para a análise de enzimas relacionadas a defesa vegetal foram utilizados os mesmos três genótipos do experimento anterior, em um novo experimento, onde amostras de raízes foram recolhidas em triplicata nos tempos 0, 36, 72, 120 e 172 horas após a inoculação. Foram medidas a atividade das enzimas polifenoloxidase (PFO), fenilalanina amônia-liase (FAL) e peroxidase (POX), e determinado o teor de proteínas totais. Não houve atividade de PFO em nenhum dos genótipos. A resistência do genótipo 1808 pode ser explicado pelos picos de atividade de FAL. Já a baixa suscetibilidade do genótipo 1303 ficou bem exposto, devido a sua alta atividade nas enzimas FAL e POX, porém algum outro fator fez com que esse genótipo

não fosse completamente resistente. Já a alta suscetibilidade do genótipo Guará é um pouco mais complexo de ser entendido e necessita de estudos mais aprofundados para entendê-lo.

Palavras-chave: Controle de nematoides; Rotação de cultura; *Chenopodium quinoa* Willd; Bioquímica do parasitismo.

ABSTRACT

SCHONS, Bruna Caroline. **Interaction between quinoa genotypes and *Pratylenchus brachyurus*.**

Supervisor: Prof. Dr. Claudio Yuji Tsutsumi

Co-supervisor: Prof. Dr. José Renato Stangarlin

Quinoa is a plant very rich in nutrients for both human consumption and animal feed formulation, making it a viable option for crop rotation. There have not been many studies on the interaction between quinoa and pathogens. With this in mind, the aim of this work was to characterize the resistance of quinoa genotypes to the nematode *Pratylenchus brachyurus*, verify the plant defence mechanisms involved and determine the ideal amount of inoculum for future studies with this pathosystem. To this end, an experiment was carried out in a greenhouse with 10 quinoa genotypes, which were inoculated with *P. brachyurus* at 30 days after germination. The variables analyzed 45 days after inoculation were: total number of nematodes per pot, nematodes per gram of root and reproduction factor. 7 of the 10 genotypes tested showed resistance, 2 showed a low degree of susceptibility and one proved to be highly susceptible. One resistant genotype, one with a low degree of susceptibility and one with a high degree of susceptibility were selected for the next experiment, in order to check their behavior at different population levels and define the ideal inoculum level for this pathosystem. The initial populations tested were 250, 500, 1,000, 2,000 and 4,000 nematodes per pot. The genotypes showed that the point of maximum initial population was between 1,000 and 2,000 nematodes per pot. For the analysis of enzymes related to plant defense, the same three genotypes from the previous experiment were used in a new experiment, where root samples were taken in triplicate at 0, 36, 72, 120 and 172 hours after inoculation. The activity of the enzymes polyphenol oxidase (PFO), phenylalanine ammonia lyase (FAL) and peroxidase (POX) was measured, and the total protein content was determined. There was no PFO activity in any of the genotypes. The resistance of genotype 1808 can be explained by the peaks in FAL activity. The low susceptibility of genotype 1303 was well exposed due to its high activity in the enzymes FAL and POX, but some other factor meant that this genotype was not completely resistant. The high

susceptibility of the Guará genotype, on the other hand, is a little more complex to understand and requires more in-depth studies.

Keywords: Nematode control; Crop rotation; *Chenopodium quinoa* Willd; Biochemistry of parasitism.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Comportamento dos genótipos 1303, 1808 e Guará de quinoa, confrontados com populações de *Pratylenchus brachyurus* para a variável quantidade total de nematoides por vaso.....**37**
- Figura 2** - Comportamento dos genótipos 1303, 1808 e Guará de quinoa, confrontados com populações de *Pratylenchus brachyurus* para a variável nematoides por grama de raiz. Análise de regressão a 5% de probabilidade.....**38**
- Figura 3** - Comportamento dos genótipos 1303, 1808 e Guará de quinoa, confrontados com populações de *Pratylenchus brachyurus* para a variável: Fator de reprodução. Análise de regressão a 5% de probabilidade.....**38**
- Figura 4** – Atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) em função do tempo após a inoculação de genótipos de quinoa com *Pratylenchus brachyurus*.....**41**
- Figura 5** – Atividade da enzima peroxidase (POX) em função do tempo após a inoculação de genótipos de quinoa com *Pratylenchus brachyurus*.....**43**
- Figura 6** – Atividade Proteínas totais em função do tempo após a inoculação de genótipos de quinoa com *Pratylenchus brachyurus*.....**45**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Genótipos de quinoa selecionados após teste de germinação de sementes.....**33**

Tabela 2 - Comparação dos genótipos de quinoa confrontados com *Pratylenchus brachyurus* para as variáveis número total de nematoides por vaso, nematoides por grama de raiz e fator de reprodução.....**34**

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 15 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 17 |
| 2.1 Quinoa | 17 |
| 2.1.1 Histórico e produção | 18 |
| 2.1.2. Quinoa no Brasil | 19 |
| 2.1.3 Situação atual..... | 20 |
| 2.2. Doenças da quinoa | 21 |
| 2.3. Nematoides | 22 |
| 2.3.1 Gênero <i>Pratylenchus</i> | 23 |
| 2.3.2. Controle de nematoides | 24 |
| 2.4. Resistência vegetal..... | 25 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 29 |
| 3.1 Teste simples de germinação dos genótipos de quinoa..... | 29 |
| 3.2 Teste resistência x suscetibilidade dos genótipos de quinoa a <i>P. brachyurus</i> | 29 |
| 3.2.1 Obtenção do inóculo e inoculação | 30 |
| 3.2.2 Análises nematológicas | 31 |
| 3.3 Pressão de população | 31 |
| 3.4 Análises bioquímicas para verificar atividade das enzimas relacionadas a defesa vegetal | 33 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 36 |
| 4.1. Teste de germinação dos genótipos de quinoa..... | 36 |
| 4.2 Teste resistência x suscetibilidade dos genótipos de quinoa a <i>P. brachyurus</i> | 37 |
| 4.3 Pressão de população | 39 |
| 4.4 Análises bioquímicas para verificar atividade das enzimas relacionadas a defesa vegetal | 42 |
| 4.4.1 Polifenoloxidase | 43 |
| 4.4.2 Fenilalanina amônia-liase..... | 43 |
| 4.4.3 Peroxidase..... | 45 |
| 4.4.1 Proteínas totais | 47 |
| 5. CONCLUSÕES | 49 |
| 6. REFERÊNCIAS | 50 |

1. INTRODUÇÃO

A quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) é uma planta cuja os primeiros registros são da região dos Andes, há mais de 5 mil anos. Para os povos andinos essa planta foi base da alimentação por muito tempo e alguns desses povos a consideravam sagrada. Porém, após a colonização espanhola, seu cultivo foi reduzido, sendo substituída por outras culturas mais comuns ao povo espanhol.

Esta planta voltou a ter relevância nos dias atuais por diversos motivos, como aumento populacional, onde demanda-se maior produção de alimentos, e aumento do número de pessoas que buscam uma alimentação mais saudável, devido a quino ser rica em nutrientes, além de estar sendo bastante utilizada por veganos e celíacos para compor suas dietas (CASTILLO-RUIZ et al., 2018).

Apesar de os maiores produtores atualmente continuarem sendo os países andinos como Bolívia, Peru, Equador e Colômbia, nos Estados Unidos tem aumentado a produção de quinoa. Já no Brasil o interesse pela inserção dessa planta na agricultura nacional vem desde os anos 1990, quando a Embrapa Cerrado realizou pesquisas sobre a planta e distribuiu sementes para agricultores de diversas regiões (SPEHAR e SANTOS, 2002).

A quinoa ainda não é considerada pelos produtores nacionais como uma opção dentro da agricultura mais tradicional, apesar de apresentar bom valor de mercado, ter valor nutricional alto para consumo humano e para formulação de rações, além de uma ótima opção para a rotação de cultura.

As pesquisas envolvendo a quinoa se restringem basicamente as questões de melhoramento e de produtividade, sendo poucos os estudos visando a fitossanidade da cultura. Das pesquisas na área fitopatológica, encontra-se que a quinoa demonstrou resistência a algumas espécies de nematoides do gênero *Meloidogyne*, porém ainda faltam pesquisas sobre os demais gêneros, como *Pratylenchus*, objeto deste trabalho.

O problema com nematoides vem ganhando destaque ao longo dos últimos anos devido a elevados danos que os mesmos promovem, além do difícil controle, alto índice de infestação e a variedade de espécies de plantas que atacam. No Brasil os gêneros que causam maior impacto econômico são os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) e os nematoides das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.).

A dificuldade no controle dos nematoides vem principalmente do crescimento exponencial de sua população a cada ciclo, que no caso do gênero *Pratylenchus*, por exemplo, é de 3 a 6 semanas apenas. O controle químico é feito através dos nematicidas, porém esses produtos têm mostrado baixa eficácia de controle, além da necessidade de reaplicações, o que torna o seu uso bastante oneroso. Além do fator econômico, o uso de produtos químicos também traz como desvantagem a possibilidade de contaminação do meio ambiente.

Geralmente, o que se recomenda é o manejo integrando, como o emprego de práticas como a rotação de culturas, uso de produtos biológico e extratos vegetais e a escolha de cultivares resistentes. No entanto, o uso de rotação de culturas é limitado, uma vez que esses fitonematoides são polívoros, restando assim poucas plantas para serem usadas nesta prática. Por este motivo é tão importante pesquisar novas culturas e testá-las para possível resistência aos nematoides.

O gênero *Pratylenchus* é classificado como um endoparasita migrador devido ao seu ciclo de vida, onde todos os estágios, juvenis e adultos, são filiformes, infectivos e com intensa movimentação. As fêmeas podem colocar os ovos tanto dentro da raiz, como fora dela, e dos ovos eclodem juvenis de segundo estágio (J2), já infectivos. No parênquima cortical irão alimentar-se, injetando toxinas e movimentando-se intensamente, fazendo com que as células atacadas entrem em colapso após a saída do nematoide, sendo porta de entrada para os outros patógenos veiculados pelo solo.

Essa intensa movimentação pode provocar a liberação de fragmentos da parede celular vegetal, os quais podem vir a atuar como padrões moleculares associados ao dano (DAMPs), induzindo a planta a uma resposta de resistência. A resistência vegetal envolve a ativação de alguns mecanismos de defesa, por exemplo fitoalexinas e enzimas como peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase.

Com isso, o objetivo desse trabalho foi estudar a resistência/suscetibilidade de genótipos de quinoa a *P. brachyurus*, encontrar o nível populacional inicial ideal para experimentação desse patossistema, e verificar os mecanismos de defesa vegetal envolvidos nessa interação,

particularmente as enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Quinoa

A quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) está classificada dentro da família *Amaranthaceae*, subfamília *Chenopodiaceae*, gênero *Chenopodium* e ordem *Caryophyllales* (APG III, 2009). Sua reprodução é predominantemente autógama, ocorrendo também alogamia, em menor quantidade e intensidade variáveis, dependendo da proximidade de outros genótipos e agentes polinizadores (ROCHA, 2011; SPEHAR, 2007).

A quinoa é considerada uma planta de metabolismo fotossintético C3, herbácea e anual. Seu crescimento inicial é mais lento, acelerando após 30 dias da emergência, com tamanhos entre de 0,2 a 3 metros, que pode variar dependendo das condições ambientais e do genótipo (MUJICA-SANCHEZ et al., 2001; SPEHAR; SANTOS, 2002). Sua arquitetura, segundo Rojas e Pinto (2013) varia conforme a variedade, o solo e a densidade de semeadura, sendo de quatro formas distintas: simples, ramificado com haste no terço inferior, ramificado com haste no segundo terço e ramificada com panícula principal indiferenciada.

A raiz da quinoa é pivotante e profunda, podendo atingir até 1,80 metros, bastante ramificada e fibrosa, conferindo a planta resistência a seca e estabilidade. O caule é cilíndrico, de coloração verde a roxo, com estrias (MUJICA- SANCHEZ et al., 2001). As folhas são polimórficas em uma mesma planta, as basais grandes, romboides ou triangulares, enquanto as superiores, próximo à panícula, são lanceoladas. Sua cor varia do verde ao vermelho passando ao amarelo e violeta, dependendo da natureza e importância dos pigmentos (ABDELBAR, 2018).

As flores são de tamanho pequeno, desprovidas de pétalas chegando ao tamanho máximo de 3 mm, hermafroditas (BHARGAVA; SHUKLA; OHRI, 2006). Possui inflorescência do tipo panícula e o fruto é um aquênio indeiscente protegido pelo perigônio, contendo grãos que podem atingir até 2,66 mm de

diâmetro com cores que variam entre branca, amarela, púrpura, café, vermelha e negra (GIUSTI, 1970; MUJICA-SANCHEZ et al., 2001; WILSON, 1990).

A quinoa apresenta alta variação e plasticidade, o que permite adaptação em diferentes condições ambientais, tolera fatores climáticos adversos como seca e geadas, solos com salinidade, diferentes altitudes, entre outros fatores (APAZA et al., 2013)

2.1.1 Histórico e produção

Segundo Maughan et al. (2012), a quinoa foi domesticada pelos povos andinos há mais de 5.000 anos, sendo de grande importância alimentar para aquelas populações, sendo considerada cultura de subsistência devido a sua resistência a condições climáticas adversas, como a altitude elevada, e podendo ser cultivada em solos pobres. Além de ser base da alimentação local, a quinoa possuía importância cultural e religiosa para os povos andinos (ANGELI et al., 2020).

Com a chegada dos conquistadores espanhóis no século XVI, a quinoa perdeu importância devido à imposição de cultivos europeus como trigo e cevada. A colonização europeia e a difusão de alimentos introduzidos pelos colonizadores levaram a uma redução significativa do cultivo de quinoa e à marginalização da planta (BAZILE; BERTERO; NIETO, 2016; JANCUROVÁ; MINAROVÍČOVÁ; DANDAR, 2009; ZÚNIGA, 2013).

No entanto, a quinoa nunca desapareceu completamente e manteve-se como um alimento tradicional em algumas comunidades andinas. Nas últimas décadas, houve um ressurgimento do interesse pela quinoa devido ao seu valor nutricional. A demanda global por alimentos saudáveis e sustentáveis impulsionou o cultivo e consumo da quinoa em outros países além dos Andes (ANGELI et al., 2020; JACOBSEN, 2011).

Nos últimos anos, a produção de quinoa tem aumentado significativamente. De acordo com Castillo-Ruiz et al. (2018), a produção global de quinoa passou de aproximadamente 70.000 toneladas em 2012 para mais de 140.000 toneladas em 2016. A produtividade da quinoa varia de acordo com as condições de cultivo e manejo, mas geralmente encontra-se entre 500 a 2.000 kg ha⁻¹.

Os dados de produção da quinoa não são atualizados com tanta frequência quando comparado a outras culturas. Os dados mais recentes fornecidos são de 2018 e mostram uma área mundial cultivada de 173 mil hectares com produção de 146 mil toneladas. A Bolívia e o Peru são os principais produtores, seguidos pelo Equador, Colômbia e Estados Unidos, que juntos somam mais de 99% da área mundial de cultivo. A produtividade média mundial no ano de 2017 foi de 847 kg ha⁻¹. Porém, a Bolívia, país que representa 60% da área cultivada, apresenta média de apenas 603 kg ha⁻¹, o que se deve principalmente as condições climáticas do local, mas também um baixo investimento em pesquisa e melhoramento (ALANDIA et al., 2020).

A expansão para fora do centro de origem se intensificou apenas por volta dos anos 1940, quando os Estados Unidos executaram experimentos com a quinoa, que começaram por volta de 1948, a partir de sementes vindas do Chile. Atualmente, os Estados Unidos, juntamente com o Canadá, produzem cerca de 10% da produção mundial de quinoa. Na Europa a cultura foi introduzida em 1978, também com germoplasma do Chile, em Cambridge, na Inglaterra, e no Vale de Loire, na França (JOHNSON; CROISSANT, 1985, GALWEY, 1993; FLEMMING; GALWEY, 1995).

2.1.2. Quinoa no Brasil

No Brasil o cultivo da quinoa é relativamente recente. Houve um programa de introdução da cultura por volta de 1990 feito por parte da Embrapa Cerrado, afim de aumentar a diversificação de produção nesse bioma. O principal foco na utilização dessa cultura em solos brasileiros é ser uma alternativa para proteção do solo em sistema de plantio direto e para rotação de cultura, onde o grão pode ser utilizado tanto como alimento, quanto na formulação de rações (SPEHAR e SANTOS, 2002).

No início, a quinoa foi introduzida em algumas regiões brasileiras com características climáticas semelhantes às dos Andes, como o Planalto Central e a região Sul do país. A pesquisa científica desempenhou um papel fundamental na avaliação de variedades de quinoa, adaptação ao clima e manejo agrônomico. Posteriormente os esforços foram direcionados para a seleção de variedades adaptadas ao clima tropical brasileiro, o que envolveu pesquisas para

desenvolver cultivares com maior resistência a pragas e doenças e que pudessem se desenvolver em diferentes tipos de solo (SPEHAR, 2006).

As pesquisas lideradas principalmente pela Embrapa com o apoio da Universidade de Brasília (UnB) desenvolveram os aspectos agronômicos da quinoa, assim como também os aspectos de processamentos e comercialização. Em 2002 foi disponibilizada no mercado a cultivar BRS Piabiru, pioneira brasileira, que tem como principais características a ausência de saponina, ciclo longo (145 dias em média) e sementes pequenas. Milhares de amostras de sementes desta cultivar foram distribuídas de forma gratuita a agricultores de diversas regiões do Brasil, e os resultados obtidos por estes produtores possibilitaram adequações no cultivo e o desenvolvimento de novos genótipos (SPEHAR; FRANCISCO; PEREIRA, 2014).

2.1.3 Situação atual

Devido a maior busca de alimentação saudável, assim como de produção de alimentos mais sustentáveis, a quinoa ganhou cada vez mais enfoque. O valor nutricional e benefícios para a saúde são muitos, sendo seus grãos ricos em proteínas, fibras, ácidos graxos ômega-3, minerais e vitaminas, tornando-a um alimento altamente nutritivo (PATHAN; SIDDIQUI, 2022).

Segundo Vilcacundo e Hernández-Ledesma (2017), quando a quinoa é comparada a outros grãos mais comuns na alimentação humana e animal, tais como arroz, trigo, milho e centeio, mostra-se superior nutricionalmente. O teor de proteína das sementes varia entre 13,1% e 16,7%, além disso os valores de albumina e globulina giram em torno de 35% e 37%, respectivamente, além de um alto teor nos principais aminoácidos, o que torna a semente da quinoa uma opção interessante para vegetarianos e para a alimentação animal.

Além disso, pesquisas interessantes têm sido realizadas associando o consumo da quinoa a melhora de algumas doenças, como por exemplo Farinazzi-Machado et al. (2012), que concluíram em seu trabalho que o uso da quinoa na alimentação pode ser considerado benéfico na prevenção e tratamento de fatores de risco de doenças cardiovasculares, assim como Almeida e Sá (2009), que trouxeram em seus estudos os benefícios do consumo da quinoa para doentes celíacos.

A quinoa também tem sido valorizada como uma cultura sustentável, devido à sua adaptabilidade a condições adversas de crescimento e ao seu baixo impacto ambiental. A quinoa é considerada uma cultura resistente à seca e tolerante à salinidade, doenças e pragas, o que a torna uma opção viável para áreas afetadas pela escassez de água e solos salinos. Também é uma opção interessante pensando na rotação de cultura, e pode ser alternativa para proteção do solo em plantio direto pela alta produção de biomassa (JACOBSEN; MUJICA; JESEN, 2003; SILVA et al., 2014).

Porém, apesar de ser uma cultura promissora, as pesquisas com quinoa voltam-se majoritariamente para a parte produtiva, e pouco se tem de informação quanto às doenças que afetam essa planta.

2.2. Doenças da quinoa

São poucos os estudos fitossanitários com a cultura da quinoa no Brasil, com dados não tão atuais e são mais generalizados. Sabe-se que a quinoa é atacada por alguns patógenos, os quais causam doenças diversas como míldio, tombamento, ferrugem e mosaico (BHARGAVA; SHUKLA; OHRI, 2006). O míldio (*Peronospora farinosa*) é o mais severo patógeno da quinoa, causando redução de 33% a 58% na produção, mesmo nas cultivares mais resistentes (DANIELSEN; BONIFACIO; AMES, 2003).

O sudeste peruano é o maior produtor de quinoa e nesta localidade a principal praga encontrada é a larva da mariposa *Eurysacca melanocampta* Meyrick, que causa grandes perdas de rendimento de grãos. A fêmea deposita seus ovos nas folhas da planta de quinoa durante o florescimento, com as larvas alimentando-se das folhas e, posteriormente, dos grãos já formados (BHARGAVA; SHUKLA; OHRI, 2006).

Quanto à suscetibilidade a nematoides, há um estudo de Mendonza-Lima, Casa-Ruiz e Bellé (2020), que demonstrou que os genótipos locais peruanos apresentaram suscetibilidade a *Meloidogyne incognita* e resistência a *M. arenaria* e *M. hapla*. Assim como no trabalho de Bocalini (2021), que demonstrou que a cultivar BRS Piabiru, a mais comum no Brasil, é uma boa multiplicadora para *M. incognita* e *M. javanica*.

Em contrapartida, Gussi (2021) relatou que a cultivar BRS Piabiru se mostrou resistente aos nematoides *Heterodera glycines* e *Meloidogyne enterolobii*. Porém, com nematoides do gênero *Pratylenchus* spp. não há nenhum relato.

2.3. Nematoides

Os nematoides são organismos geralmente tubulares alongados, com diâmetro constante ao longo do comprimento, afinando-se gradualmente na extremidade anterior. O tamanho pode variar de 0,2 mm a mais de 8 m de comprimento, porém, a grande maioria é microscópica. São pseudocelomados, não segmentados, de simetria bilateral, ovíparos, dioicos, com sistema digestivo e reprodutivo completo. Pertencem ao reino animal (Animalia), filo Nemata ou Nematoda, compreendendo duas classes, Chromadora e Enoplea (FERRAZ, 2018).

São organismos que necessitam da presença de água para sobreviver, podendo ser encontrados em águas salgadas, águas doces e película de água do solo. A maioria é de vida livre, alimentando-se de microrganismos, tais como bactérias (bacteriófagos), fungos (micetófagos ou micófagos), algas (algívoros), protozoários (protozoófagos), pequenas minhocas ou oligoquetas (oligoquetófagos), outros nematoides (nematófagos), animais (carnívoros) e parasitas de plantas superiores (fitoparasitos) (FERRAZ e MONTEIRO, 2011; SUBEDI; THAPA; SHRESTHA, 2020).

A maior parte dos nematoides não causa danos à agricultura, pelo contrário, agem de forma benéfica, degradando e mineralizando matéria orgânica. Porém, há uma parcela que causa grandes prejuízos, os chamados fitonematoides (EVES-VAN DEN AKKER, 2021).

O que difere os nematoides de vida livre para os fitonematoides é a presença do estilete bucal, uma estrutura tubular, com um corte em bisel na ponta e uma perfuração ao centro. A presença deste aparato permite a entrada mecânica dos nematoides nas raízes das plantas, além da injeção de toxinas, o que possibilita a sua alimentação (FERRAZ e BROWN, 2016).

Os danos causados por qualquer espécie de nematoide irá depender da relação densidade populacional/massa de raízes, assim como o vigor das

plantas e sua capacidade de tolerar altas populações desse patógeno. Quando em alta densidade populacional, os nematoides causam graves danos ao sistema radicular, que se torna subdesenvolvido e ineficiente, levando à diminuição da produtividade. Os sintomas visíveis na parte aérea, que são os sintomas reflexos, no geral, são similares a deficiência nutricional e ocorrem em reboleiras (SILVA et al., 2017; PORTO et al., 2018).

Já os danos principais, os seja, os danos radiculares, irão depender de cada gênero e é inclusive a principal característica para distingui-los a campo. No Brasil os gêneros de fitonematoides de maior importância são *Meloidogyne*, conhecido como nematoide das galhas, e *Pratylenchus*, o nematoide das lesões radiculares (CASTILLO et al., 2012).

2.3.1 Gênero *Pratylenchus*

O gênero *Pratylenchus* é popularmente conhecido como “nematoide das lesões radiculares”, devido ao sintoma principal encontrado nas raízes infestadas. Segundo Gonzaga et al. (2016), pelo menos 10 espécies deste gênero já foram detectadas nos Brasil, sendo as mais comuns *P. brachyurus*, *P. coffeae* e *P. zea*.

Os nematoides do gênero *Pratylenchus* são polípagos, classificados como endoparasitas migradores devido ao seu ciclo de vida, onde todos os estágios, juvenis e adultos, são filiformes, infectivos e com intensa movimentação. O ciclo de vida compreende seis estágios: o ovo, quatro estágios juvenis (J1 a J4) e a forma adulta. As fêmeas podem depositar seus ovos isoladamente no solo ou no interior das raízes parasitadas, e deles eclodem os juvenis de segundo estágio (J2), já infectivos. A infecção, no geral, se restringe ao parênquima cortical que sofre pela ação mecânica, devido a intensa movimentação dos nematoides, pela ação espoliativa, a própria alimentação, e ação tóxica, pois antes e durante a alimentação observa-se a injeção de secreções esofagianas nas células, o que causa degeneração e morte das mesmas (DE MELO SANTAN-GOMES et al., 2019; FERRAZ, 2018; OLOWE e CORBETT, 1984).

O dano principal se dá pela intensa movimentação do nematoide tanto intra, quanto intercelularmente, envolvendo ação mecânica e enzimática. As células parasitadas entram em colapso logo após os nematoides a deixarem, o

que resulta na presença de largas cavidades no córtex quando o ataque é intenso. As raízes parasitadas mostram-se pouco volumosas e apresentam uma típica alternância entre áreas com lesões necróticas, com tons mais escuros, e áreas saudias. Como sintoma reflexo é observado subdesenvolvimento das plantas em reboleiras. As lesões provocadas pelo nematoide também podem servir de porta de entrada para outros microrganismos (FERRAZ, 2018).

No geral, a reprodução ocorre partenogenicamente, com raras exceções na espécie *P. coffea*, quando os machos se encontram em abundância e a reprodução ocorre de forma anfimítica, o que não ocorre nas espécies *P. brachyurus* e *P. zea*. A duração do ciclo dos nematoides do gênero *Pratylenchus* varia entre 3 e 6 semanas, dependendo da espécie e dos fatores ambientais (FERRAZ e BROWN, 2016; YU et al., 2012).

2.3.2. Controle de nematoides

No geral, o combate aos nematoides baseia-se no controle químico, uso de espécies ou genótipos resistentes e controle alternativo. O controle químico é feito com os chamados nematicidas, porém, existem poucos desses produtos registrados no Brasil, e apenas para algumas culturas, não havendo registro para quinoa. Além disso, o controle químico não possui alta eficiência, o que requer um certo número de reaplicações durante o ciclo da cultura, entrando no ponto de que o uso contínuo acarreta em problemas ambientais, na seleção de nematoides resistentes, além de aumentar os custos de produção (FERRAZ e BROWN, 2016; GAO et al., 2016; TEJO; DOS SANTOS FERNANDES; BURATTO, 2020).

Tem se pesquisado bastante o controle alternativo, ou seja, o controle não químico convencional, que envolve o uso de extratos vegetais como alecrim, tanto para controle de *Meloidogyne* spp. (SCHONS et al., 2022), como para *Pratylenchus brachyurus* (SOUZA, 2020), eucalipto (FABIYI; ATOLANI; OLATUNJI, 2020), folhas de girassol (ALCÂNTARA NETO et al., 2018) e erva santa-maria (MELLO; MACHADO; INOMOTO, 2006). No controle biológico se destacam bactérias do gênero *Bacillus*, como por exemplo *Bacillus firmus*, *B. amyloliquefaciens* e *B. subtilis*, que já possuem registros como nematicidas biológicos para determinadas culturas (ADAPAR, 2023; MACHADO et al., 2012).

Uma estratégia muito importante dentro do manejo integrado no controle dos nematoides, é o uso de cultivares ou genótipos resistentes. Isso porque os nematoides aumentam sua população exponencialmente a cada ciclo de reprodução e, ao utilizar uma planta com resistência, o mesmo não tendo como se reproduzir, irá estacionar o número de indivíduos e com o passar do tempo, este número tende a reduzir (INOMOTO, 2016; LEANDRO; ASMUS, 2015).

Se a cultura de interesse econômico não possui cultivares com resistência disponíveis no mercado, pode se fazer essa quebra do ciclo do nematoide rotacionando essa cultura com alguma planta resistente. E nesta busca de opção para rotação, muitas vezes tem-se que fugir do comum à agricultura e procurar opções que, além de trazerem os benefícios da resistência, também tragam retorno econômico satisfatório para o produtor, como é o caso da quinoa (HUSSAIN; MUKHTAR; KAYANI, 2016; LEANDRO; ASMUS, 2015; SILVA et al., 2018).

2.4. Resistência vegetal

A interação patógeno-planta não se limita simplesmente a ocorrência ou não ocorrência da doença. Nesta interação ocorre uma batalha onde o patógeno usa todo seu arsenal estrutural e bioquímico para atacar a planta, enquanto a planta utiliza de seus mecanismos de defesa tentando evitar a entrada e o estabelecimento do patógeno. Portanto, a resistência de um hospedeiro pode ser definida como sua capacidade de atrasar ou evitar a entrada e/ou a subsequente atividade do patógeno em seus tecidos (PASCHOLATI; DALIO, 2018; SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; PASCHOLATI, 2008).

Na natureza, a resistência é a regra, e a suscetibilidade, a exceção. Isso porque, embora a planta esteja constantemente submetida a inúmeras ameaças, são apenas alguns patógenos em condições específicas que podem lhe causar uma doença. A resistência é um sistema multicomponente, onde seu sucesso depende da somatória das contribuições individuais de diferentes mecanismos de resistência, que devem ocorrer de forma dinâmica e coordenada, em uma sequência lógica após o reconhecimento da presença do patógeno (PASCHOLATI; DALIO, 2018).

Os mecanismos de resistência vegetal podem ser divididos em pré-formados, também chamados passivos ou constitutivos, que são aqueles que estão presentes e ativos na planta durante todo seu ciclo, independente da presença do patógeno, e pós-formados, também conhecidos como ativos ou induzíveis, que são os mecanismos somente formados ou ativados a partir do reconhecimento da presença do patógeno. Essa divisão ocorre principalmente para evitar que a planta gaste energia demais com seu sistema de defesa, ao ponto que possa atrapalhar seu crescimento, desenvolvimento e produtividade (VALLE; SANTOS; SILVA et al., 2018).

Dentro de ambos os grupos existe uma outra divisão, onde tem-se os mecanismos de resistência físicos, ou seja, barreiras físicas à entrada e estabelecimento do patógeno, que podem tanto ser pré-formadas, como cutícula, estômatos, tricomas, parede celular, como também podem ser pós-formados, como halos, papilas, camada de cortiça e camada de abscisão (MARQUES; SOARES, 2023; PASCHOLATI e DALIO, 2018).

Os mecanismos de defesa bioquímicos são reações que ocorrem nas células do hospedeiro produzindo substâncias tóxicas ao patógeno, criando condições adversas para seu estabelecimento e desenvolvimento. Os mecanismos bioquímicos também podem ser pré-formados, como por exemplo compostos fenólicos, saponinas, glicosídeos cianogênicos, glicosídeos sulfurados, ou pós-formados, como espécies reativas de oxigênio, fitoalexinas e proteínas relacionadas a patogênese (RP) (PASCHOLATI e DALIO, 2018; MARQUES; SOARES, 2023).

A percepção das plantas a respeito da presença dos patógenos é mediada por proteínas receptoras específicas presentes no apoplasto e citoplasma, que levam ao reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (*Pathogen Associated Molecular Patterns* – PAMPs). No caso dos nematoides, pode haver o reconhecimento de padrões moleculares associados ao nematoide (*Nematode Associated Molecular Patterns* – NAMPs) (GOVERSE; SMANT, 2014).

Como o processo infeccioso dos nematoides, em especial do gênero *Pratylenchus*, envolve intensa movimentação, esses danos provocam a liberação de fragmentos da parede celular vegetal, fragmentos estes que podem vir a atuar como padrões moleculares associados ao dano (DAMPs), induzindo

a planta a uma resposta de resistência. Além disso, é discutida a presença de moléculas associadas aos nematoides atuando como NAMPs, que seriam uma forma de PAMPs específicos dos nematoides. Esses NAMPs induzem a resistência através da quitina, compostos cuticulares, ascarosídeos, entre outros (HOLBEIN; GRUNDLER; SIDDIQUE, 2016).

A defesa vegetal no patossistema envolvendo nematoides é mediada pelo sistema imune inato multicamadas, iniciado pelo reconhecimento dos DAMPs e NAMPs, induzindo a defesa, o que resulta em uma resposta rápida que pode incluir produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), compostos antimicrobianos, enzimas e inibidores de protease, lignificação e calose, mecanismos cuja a ativação está fortemente ligada a intensa movimentação do nematoide (GOVERSE; SMANT, 2014).

A resistência vegetal envolve alterações metabólicas que estão correlacionadas com mudanças na atividade de enzimas chaves nos metabolismos primário e secundário. As alterações nas atividades dessas enzimas chaves permitem acompanhar o estado de resistência em plantas expostas a patógenos. Entre essas, estão peroxidases, fenilalanina amônia-liase e polifenoloxidasas (MARQUES; SOARES, 2023; STANGARLIN et al., 2011; VALLE; SANTOS; SILVA, 2018).

Na resistência vegetal a patógenos a fenilalanina amônia-liase tem papel importante nas reações do metabolismo dos compostos fenólicos, realizando a desaminação da L-fenilalanina, convertendo-a em ácido *trans*-cinâmico e amônia, sendo o ácido *trans*-cinâmico o primeiro composto formado na rota dos fenilpropanoides em plantas superiores, o qual é incorporado em diferentes compostos fenólicos. Logo, essa enzima é essencial para biossíntese de ésteres, coumarinas, fitoalexinas fenólicas, flavonoides, ácido salicílico e lignina, que se acumulam em resposta à infecção (STANGARLIN et al., 2011; ALMEIDA et al., 2012).

As peroxidases são classificadas como proteínas relacionadas à patogênese (proteínas - RP) pertencentes à família PR-9 por Van Loon e Van Strien (1999) (PASCHOLATI; DALIO, 2018). As enzimas desse grupo são estudadas nos processos de defesa e resistência da planta por terem importante papel na lignificação, suberização e metabolismo da parede celular, e ainda podem estar envolvidas em respostas de hipersensibilidade e produção de

fitoalexinas (CAVALCANTI; BRUNELLI; STANGARLIN, 2005; NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992). Além disso, é vista juntamente com a polifenoloxidase como enzima antioxidante, contribuindo para o controle das espécies reativas de oxigênio (ERO's) em plantas (BARBOSA et al., 2014).

O grupo das polifenoxidasas são as enzimas responsáveis pela catalisação da reação de oxidação de polifenóis para transformá-los em quinonas. Em geral encontram-se dormentes, porém, são liberadas quando ocorre uma ruptura, seja dano mecânico ou por ação de insetos e patógenos, iniciando assim o processo de oxidação dos compostos fenólicos transformando-os em quinonas, sendo as quinonas um fator antinutritivo na alimentação do invasor, protegendo o ponto de infecção. O aumento da atividade dessa enzima eleva a concentração de produtos tóxicos, resultando em uma resistência vegetal mais pronunciada, além do poder antioxidante, já citado (CAMPOS et al., 2004; KUHN, 2007).

Essas três enzimas estão fortemente ligadas à síntese da lignina a partir de compostos fenólicos, na via dos fenilpropanoides. Quando os nematoides infectam a planta ativam genes específicos, além de ativar a síntese dessas mesmas enzimas, que podem prejudicá-los (SANKAR et al., 2017; MATTEI, 2018).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Teste simples de germinação dos genótipos de quinoa

A Unioeste possui um acervo de genótipos de quinoa disponível em seu banco de sementes, proveniente de projetos de melhoramento desta cultura. Os genótipos utilizados neste experimento foram selecionados desse estoque, ou seja, foram desenvolvidos dentro da própria universidade, não comerciais.

Foram selecionados 19 genótipos de quinoa para teste de germinação: Q1223, Q1303, Q1306, Q1307, Q1330, Q1506, Q1523, Q1802, Q1806, Q1808, Q1809, Q1811, Q1813, Q1814, Q1815, Q1816, Q1817, Q1881 e Guará.

As sementes foram submetidas a teste simples de germinação, composto de um gerbox para cada genótipo, com papel germiteste duplo umedecido com água destilada. Em cada gerbox foram dispostas 100 sementes. Cada gerbox foi revestido com papel alumínio, para que as sementes ficassem no escuro, e após 4 dias foi realizada a contagem de sementes germinadas. Esse teste foi realizado no Laboratório de Nematologia da Unioeste.

Dos 19 genótipos testados, foram selecionados os 10 materiais com melhor germinação para os próximos experimentos.

3.2 Teste resistência x suscetibilidade dos genótipos de quinoa a *P. brachyurus*

O experimento foi conduzido na Estação de Cultivo Protegido “Professor Mario Cesar Lopes”, em Marechal Cândido Rondon - PR. Foi utilizado o delineamento experimental de blocos casualizados (DBC), que foi composto pelos 10 genótipos selecionados na etapa anterior (Q1303, Q1330, Q1523, Q1808, Q1811, Q1813, Q1814, Q1881, Q2014, Guará), com cinco repetições cada, totalizando 50 parcelas experimentais. Cada parcela correspondeu a um vaso de 2 L.

Foram realizados diversos testes a fim de escolher o melhor solo para experimentação com a quinoa, uma vez que esta raramente é cultivada em vasos, mesmo em experimentos. Selecionou-se então uma combinação de solo proveniente do horizonte A de um LATOSSOLO VERMELHO Eutrófico (SANTOS et al., 2013), areia industrial, substrato comercial para plantas e húmus

comercial para plantas. Chegando nas proporções onde metade da mistura foi composta de 2:1 (volume/volume) de solo e areia peneirados e autoclavados, e a outra metade da mistura de substrato e húmus comerciais, em proporção 3:1 (v/v).

Após testes, foi definido que o melhor procedimento a se seguir, seria depositar as sementes diretamente nos vasos de cultivo, onde plantou-se 10 sementes, para posterior desbaste, onde foram conduzidas 3 plantas por vaso.

3.2.1 Obtenção do inóculo e inoculação

De uma população pura de *P. brachyurus*, mantidas em raízes de milho foi extraído o inóculo necessário a experimentação. A extração ocorreu seguindo a metodologia proposta por Collen e D'Herde (1972), onde as raízes contendo populações puras de *P. brachyurus* foram seccionadas com tesoura, em pedaços de aproximadamente 2 cm e posteriormente foram trituradas com água suficiente apenas para cobri-las, em liquidificador, por aproximadamente 30 segundos. A suspensão obtida após este processo passou por um conjunto de peneiras sobrepostas de 60 e 500 mesh. O conteúdo retido na peneira de 60 mesh foi a parte mais grosseira de material, e o que ficou retido na peneira de 500 mesh foi recolhido em um béquer para contagem, uma vez que estudos comprovam que os nematoides não passam por essa densidade de malha. Como a amostra mostrava-se bastante limpa, descartou-se as etapas de centrifugação.

Para a contagem, pipetou-se 2 mL da solução contendo os nematoides, a qual foi depositada no interior da câmara de Peters, onde realizou-se a contagem em 1 mL (área da contável da lâmina), considerando os nematoides em todas as etapas do seu ciclo de vida, inclusive o ovo, com auxílio de microscópio ótico para realizar a contagem.

Após 30 dias da germinação das sementes, foi realizada a inoculação. Após a contagem, foi realizada diluição da suspensão contendo os nematoides, para que cada mL correspondesse a 100 nematoides, então foram pipetados 5 mL por vaso, totalizando 500 espécimes de *P. brachyurus* por parcela experimental, conforme indicado por estudos desse nematoide.

3.2.2 Análises nematológicas

Após 45 dias da inoculação, foi realizada a coleta do material afim de avaliar as variáveis nematológicas: quantidade total de nematoides por vaso, quantidade de nematoides por grama de raiz e fator de reprodução.

Para isso as raízes foram lavadas, secas cuidadosamente e pesadas. Então foram extraídos e contados os nematoides, seguindo a metodologia Collen e D'Herde (1972), como descrito no item 3.1.1. Foram contados os espécimes contidos nas raízes de cada vaso (primeira variável), e este valor foi dividido pela massa das raízes de cada vaso (segunda variável).

Para obter o fator de reprodução (terceira variável), foi utilizada a população inicial, ou seja, a quantidade de nematoides inoculados (500 nematoides neste caso), e ainda a quantidade de *P. brachyurus* encontrados nas raízes após 45 dias da inoculação, que correspondeu a população final. O Fator de Reprodução (FR) foi calculado conforme metodologia de Oostenbrink (1966), onde a população final é dividida pela população inicial (inóculo) ($FR = Pf/Pi$), e conforme os resultados obtidos são classificados como: planta suscetível, com FR superior ou igual a 1,0; planta resistente, com FR inferior a 1,0; e planta imune com FR igual a zero.

Os dados foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey pelo programa SAS University Edition (SAS INSTITUTE Inc, 2014).

3.3 Pressão de população

Após analisar os resultados obtidos no experimento anterior, selecionou-se três genótipos com diferentes níveis de suscetibilidade: Guará, que foi o melhor multiplicador dos nematoides, ou seja, altamente suscetível; 1303, que foi classificado com baixa suscetibilidade; e o 1808 que demonstrou resistência.

Foi realizado um novo experimento na Estação de Cultivo Protegido “Professor Mario Cesar Lopes”, em Marechal Cândido Rondon – PR. Novamente foi utilizado do Delineamento de Blocos Casualizados (DBC), onde os três genótipos foram submetidos à diferentes níveis populacionais, sendo eles: 250, 500, 1.000, 2.000 e 4.000 nematoides por vaso. Foram realizadas 5 repetições, resultando em 75 parcelas experimentais, que corresponderam à vasos de 2 L

com a mesma mistura de solo com areia e substrato com humos, na mesmas proporções do experimento anterior.

O objetivo desse experimento foi verificar se os comportamentos encontrados no experimento anterior se alterariam com a população e também com o objetivo de determinar a quantidade de inóculo ideal para esse patossistema, que poderia ser utilizado em futuros experimentos, uma vez que não há estudos para este patossistema.

Novamente foram plantadas 10 sementes por vasos, com desbaste antes da inoculação, para a condução, desta vez, de 2 plantas por vasos.

O inóculo foi obtido através de populações puras de *Pratylenchus brachyurys*, mantidas em raízes de milho. Estas foram extraídas seguindo a metodologia proposta por Collen e D'Herde (1972), onde as raízes contendo populações puras de *P. brachyurus* foram seccionadas e trituradas com água suficiente apenas para cobri-las, em liquidificador, por aproximadamente 30 segundos. A suspensão passou por um conjunto de peneiras sobrepostas de 60 e 500 Mesh. O conteúdo retido na peneira de 500 mesh foi recolhido em um béquer para contagem. Como a amostra mostrava-se bastante limpa, descartou-se as etapas de centrifugação. Foi realizada contagem em câmara de Peters em microscópio ótico. A inoculação ocorreu 30 dias após a emergência das plantas, onde foram inoculados 250, 500, 1.000, 2.000 e 4.000 nematoides por vaso.

Após 45 dias da inoculação, as plantas foram recolhidas para as análises. Para isso as raízes foram lavadas, secas cuidadosamente e pesadas. Então foram extraídos e contados os nematoides, seguindo a metodologia Collen e D'Herde (1972). Foram contados os espécimes contidos nas raízes de cada vasos (primeira variável), este valor foi dividido pelo peso das raízes de cada vaso (segunda variável).

Para obter o fator de reprodução (terceira variável), foi utilizada a população inicial, ou seja, a quantidade de nematoides inoculados, e ainda a quantidade de *P. brachyurus* encontrado na raiz após 45 dias de inoculação, que correspondeu a população final. O Fator de Reprodução (FR) foi calculado conforme metodologia de Oostenbrink (1966), onde a população final é dividida pela população inicial (inóculo) ($FR = P_f/P_i$), e conforme os resultados obtidos são classificados como: planta suscetível, com FR superior ou igual a 1,0; planta resistente, com FR inferior a 1,0; e planta imune com FR igual a zero.

Os dados foram submetidos a análise de variância e teste de Regressão pelo programa SAS University Edition (SAS INSTITUTE Inc, 2014).

3.4 Análises bioquímicas para verificar atividade das enzimas relacionadas a defesa vegetal

Em novo experimento na Estação de Cultivo Protegido “Professor Mario Cesar Lopes”, em Marechal Cândido Rondon – PR, utilizando novamente o Delineamento de Blocos Casualizados (DBC), com os genótipos Guará, 1303 e 1808, em cinco tempos de coleta: 0 (momento da inoculação), 36, 72, 120 e 172 horas após a inoculação, com base no ciclo de infecção do nematoide e em três repetições para cada um dos cinco tempos de coleta, totalizando 45 parcelas experimentais, que correspondem à vaso de 2 L com a mistura de solo e areia e substrato e húmus nas proporções citadas no primeiro experimento.

Foram plantas 10 sementes diretamente nos vasos de cultivo e foi realizado o desbaste, antes da inoculação, para a condução de 2 plantas por vaso.

O inoculo foi obtido através de populações puras de *Pratylenchus brachyurys*, mantidas em raízes de milho. Estas foram extraídas seguindo a metodologia proposta por Collen e D'Herde (1972), descrita detalhadamente no primeiro experimento. A inoculação ocorreu 30 dias após a germinação das sementes e foram inoculados 500 espécimes de *P. brachyurus* por vaso.

Para as análises enzimáticas, foram coletadas aproximadamente 0,5 g de raiz, na região média, descartando-se a área mais próxima a planta e as pontas das raízes, nos tempos de coleta citados acima. Assim que retiradas da planta, as raízes foram lavadas em água corrente, secas cuidadosamente em papel toalha, pesadas a fim de separar a massa fresca citada, acondicionadas em envelopes de papel alumínio identificados e imediatamente congeladas a -20 °C.

Após todas as coletas, as amostras foram divididas pela metade (0,25 g) para que fossem melhor processadas. As raízes foram colocadas em tudo específico da máquina de extração utilizada, juntamente com 1,2 mL de solução tampão fosfato de sódio 0,01 M (pH 6,0), uma pequena quantidade de

polivinilpirrolidona (PVP), para garantir melhor extração da fração enzimática, e uma pequena esfera de aço para auxiliar na maceração. Os tubos foram colocados no aparelho FastPrep-24™ 5G, com programação dupla de 7 m s^{-1} por 45 segundos para trituração e extração da fração contendo as enzimas a serem estudadas.

Após a extração, foi realizada a centrifugação das amostras à $20.000g$, por 25 minutos, a uma temperatura interna de 4° C . O sobrenadante obtido, considerado como a fração contendo as proteínas solúveis, foi armazenado em microtubos a -20° C para as posteriores análises bioquímicas das enzimas Polifenoloxidase, Peroxidase, Fenilalanina amonialiase e Teor de Proteínas Totais.

Para determinação da atividade das polifenoloxidasas foi utilizada a metodologia de Duangmal e Apenten (1999), utilizando solução substrato composta por 50 mL de tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ M}$ (pH 6,0) e 0,110 g de catecol. A solução foi mantida em banho-maria a 30° C . Para a reação tentou-se diversas concentrações como 50 μL da amostra e 950 μL do substrato, 100 μL da amostra e 900 μL do substrato, até 300 μL da amostra para 700 μL do substrato, porém o mesmo não apresentou leitura contundente. As tentativas de leitura foram realizadas em espectrofotômetro a 420 nm, utilizando cubetas de vidro, a cada 15 segundos durante 1 minuto. O diferencial entre a última e a primeira leitura deveriam ser utilizadas para a determinação da atividade.

A atividade da fenilalanina amônia-liase foi determinada através da quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado do substrato L-fenilalanina segundo a metodologia descrita por Umesha (2006). Para isso fez-se a mistura de 300 μL do sobrenadante e 700 μL da mistura de solução tampão Tris-HCl $0,025 \text{ M}$ (pH 8,8) e solução de L-fenilalanina ($0,050 \text{ M}$ em tampão Tris HCl $0,025 \text{ M}$, pH 8,8). A mistura foi incubada a 40° C por aproximadamente 2 h. Após esse período foram adicionados 100 μL de HCl 5 M para cessar a reação e, em seguida, realizada a leitura em espectrofotômetro a 290 nm, utilizando cubeta de quartzo. A absorbância foi determinada pela diferença das amostras em comparação ao controle, não contendo a fração proteica. A atividade enzimática foi expressa em μg de ácido trans-cinâmico $\text{min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína.

A atividade de peroxidase foi determinada através da conversão do guaiacol a tetraguaiacol, à 30° C , por meio do método espectrofotométrico direto

(LUSSO; PASCHOLATI, 1999). Inicialmente, foi preparado um substrato para reação contendo 12,5 mL de guaiacol 2%, 310 μL de peróxido de hidrogênio e 87,5 mL de tampão fosfato de pH 7,0. Essa solução foi mantida em banho-maria a 30 °C. No momento da leitura misturou-se 300 μL de cada amostra 700 μL da solução substrato. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 470 nm em cubetas de vidro, sendo anotado os valores de absorbância a cada 15 segundos durante 1 minuto. Os resultados foram expressos em unidades de absorbância $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína, descontando-se os valores de absorbância do controle.

A determinação de proteínas totais foi realizada seguindo o método proposto por Bradford (1976), onde 200 μL de cada amostra foram misturados a 600 μL de solução de tampão fosfato 5 M (pH 7,0) e, sob agitação em vórtex, foram adicionados 200 μL de solução de Bradford. Após 10 minutos foram realizadas as leituras de absorbância em espectrofotômetro a 595 nm, com cubetas de vidro. A concentração de proteínas foi expressa em termos equivalentes μg de albumina de soro bovino (ASB) em 1 mL de amostra (μg proteína mL^{-1}), determinada utilizando-se curva padrão de concentração de ASB.

Os dados foram submetidos a análise de variância e teste de regressão pelo programa SAS University Edition (SAS INSTITUTE Inc, 2014).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Teste de germinação dos genótipos de quinoa

Dos 19 genótipos disponibilizados na Unioeste, a maioria apresentou boa taxa de germinação. Foram então selecionados os 10 genótipos com melhores índices de germinação para a etapa subsequente (Tabela 1).

Tabela 1 - Genótipos de quinoa selecionados após teste de germinação de sementes.

| Genótipo | % de germinação |
|----------|-----------------|
| Q1814 | 66 |
| Q2014 | 66 |
| Q1813 | 65 |
| Q1303 | 65 |
| Guará | 64 |
| Q1811 | 62 |
| Q1881 | 62 |
| Q1808 | 61 |
| Q1523 | 58 |
| Q1330 | 57 |

O teste de germinação é um dos meios mais utilizados para avaliar o nível da qualidade das sementes, pois nele é testado a habilidade de uma semente germinar em determinadas condições controladas, que buscam imitar o que ocorre no campo. Neste caso, como o objetivo do processo de experimentação não era medir a germinação e este foi realizado simplesmente a fim de escolher os genótipos utilizados, optou-se por uma versão simplificado dos testes geralmente aplicados (BEWLEY; BRADFORD; HILHORST, 2012; MARCOS FILHO, 2015).

Segundo Strenske et al. (2015) a germinação de sementes de quinoa diminui com o aumento do período de armazenamento, o qual também retarda a germinação das mesmas, destacando a importância de testar estas sementes antes da experimentação.

4.2 Teste resistência x suscetibilidade dos genótipos de quinoa a *P. brachyurus*

Ao confrontar os 10 genótipos de quinoa escolhidos com o nematoide *P. brachyurus* pôde ser observado, em duas das três variáveis testadas, sendo elas número total de nematoides por vaso, nematoides por grama de raiz, que 9 dos 10 genótipos comportaram-se estatisticamente de forma semelhante, demonstrando resistência ao nematoide. No entanto, o genótipo Guará demonstrou resultados totalmente contrários aos demais, demonstrando alta suscetibilidade, neste caso os valores observados mostram que o genótipo foi um bom multiplicador para o nematoide (Tabela 2).

Tabela 2 - Comparação dos genótipos de quinoa confrontados com *Pratylenchus brachyurus* para as variáveis número total de nematoides por vaso, nematoides por grama de raiz e fator de reprodução.

| Genótipos | Número total de nematoides | Nematoides g ⁻¹ | Fator de reprodução |
|---------------|----------------------------|----------------------------|---------------------|
| 1303 | 861,20 b | 681,75 b | 1,72 b |
| 1330 | 537,00 b | 172,76 b | 1,07 b |
| 1523 | 220,80 b | 89,05 b | 0,44 b |
| 1801 | 338,80 b | 246,16 b | 0,67 b |
| 1808 | 263,20 b | 91,05 b | 0,52 b |
| 1811 | 110,00 b | 64,70 b | 0,22 b |
| 1813 | 170,50 b | 237,22 b | 0,34 b |
| 1814 | 28,40 b | 18,31 b | 0,05 b |
| 2014 | 49,20 b | 18,39 b | 0,09 b |
| Guará | 9908,0 a | 4553,5 a | 19,8 a |
| CV (%) | 298,78 | 308,88 | 103,80 |

Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Porém, há uma ressalva quanto ao fator de reprodução (FR). Segundo a metodologia de Oostenbrink (1966), são consideradas plantas suscetíveis, aquelas cuja o FR seja superior ou igual a 1,0, resistente aquelas com FR inferior a 1,0; e planta imune com FR igual a zero. Portanto, é possível concluir que os genótipos 1303 e 1330 apresentam suscetibilidade, apesar de esta demonstrasse em um menor grau, quando comparada ao genótipo Guará, que demonstrou

altamente suscetível, enquanto as demais podem ser consideradas resistentes, uma vez que seu Fator de Reprodução encontraram-se menor que 1.

A resistência da quinoa já foi testada com outros nematoides, como no trabalho de Gussi (2012), onde o autor observou que a quinoa não multiplicou *Heterodera glycines* e *Meloidogyne enterolobii*, sendo considerada resistente, constituindo opção a ser usada em sucessão e/ou rotação de culturas em áreas infestadas pelas espécies avaliadas.

No trabalho de Lima, Ruíz e Bellé (2020) foram testados seis cultivares de quinoa aos nematoides *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria* e *M. hapla*, utilizando como parâmetro as mesmas três variáveis testadas neste trabalho, total de nematoides, nematoides por grama de raiz e fator de reprodução. Os autores concluíram que todos as cultivares de quinoa são suscetíveis a *M. incognita*, duas cultivares testadas demonstraram suscetibilidade a *M. hapla* e outras três demonstraram resistência ao mesmo nematoide, e quatro cultivares demonstraram resistência a *M. arenaria*. Os autores terminam o trabalho ressaltado que são necessários maiores estudos sobre a suscetibilidade da quinoa a nematoides, uma vez que a quinoa é uma cultura de subsistência no Peru, país onde foi realizado o trabalho.

A variação na reação de resistência/suscetibilidade de variedades de determinada planta hospedeira a uma espécie de nematoide pode ser também observada em outras culturas. No caso de *P. brachyurus*, Gabriel et al. (2018) relatam que cultivares de aveia-preta apresentaram FR variando de 0,48 a 0,12, sendo, portanto, classificadas como resistentes. Porém os autores salientam que, apesar da aveia-preta ser um hospedeiro desfavorável a este nematoide, ocasionalmente pode causar pequenos aumentos populacionais.

Dos Santos et al. (2021) relataram instabilidade quanto aos resultados obtidos testando a resistência de cultivares de grão de bico a *P. brachyurus*, onde das seis cultivares testadas, quatro demonstraram resistência e duas demonstraram alto grau de suscetibilidade. Os autores atribuíram os resultados adversos entre as cultivares, às diferenças fisiológicas entre elas, relacionando por exemplo, as cultivares que tem melhor desempenho inicial e maior crescimento com os níveis de resistência observados.

Com os resultados obtidos neste trabalho podemos considerar que a maior parte dos genótipos testados de quinoa demonstraram resistência ao *P.*

brachyurus, e que o comportamento observado nos genótipos 1303, 1330 e Guará venham de alguma característica fisiológica que estes possuam, que as diferem diferente das demais, o que necessita ser investigado mais a fundo para melhor entendimento. A resistência a *P. brachyurus* pode ser explicada pelo trabalho de Holbein, Grundler e Siddique (2016), onde os autores expõem que nematoides de intensa movimentação podem causar descolamento de partes da parede celular das plantas, principalmente ao adentrarem nas raízes, e que esse tecido vegetal pode ser entendido pela planta como um padrão molecular associado ao dano (DAMPs), que iniciaria na planta a ativação de mecanismos de defesa rapidamente.

4.3 Pressão de população

Após os resultados do teste de resistência, foram selecionados três genótipos, um resistente (1808), um com baixa suscetibilidade (1303) e um altamente suscetível (Guará), para testar o comportamento com diferentes pressões de população do *P. brachyurus*. Esse é um estudo importante, não apenas para o teste dos genótipos, mas principalmente para estabelecer para futuros trabalhos com esse patossistema, qual a quantidade de nematoides seria a correta, uma vez que não há essa informação na literatura.

Para a variável quantidade total de nematoides por vaso, os resultados foram bastante variados entre os genótipos. O genótipo 1303 (com baixa suscetibilidade) demonstrou aumento da população final até o teste de 500 nematoides por vaso, e a partir desse número, houve decréscimo progressivo, ou seja, sua população final foi maior com 500 nematoides por vaso, do que com 4.000 nematoides por vaso. Já o genótipo 1808 (resistente) comportou-se de forma totalmente contrária, mantendo-se constante nas pressões populacionais mais baixas, e tendo um aumento significativo e progressivo nas duas últimas populações, de 2.000 e 4.000 nematoides por vaso. Já no genótipo Guará (altamente suscetível) houve aumento da população final, conforme o aumento da pressão de população, até a população de 2.000 nematoides por vaso, decaindo na pressão de 4.000 nematoides (Figura 1).

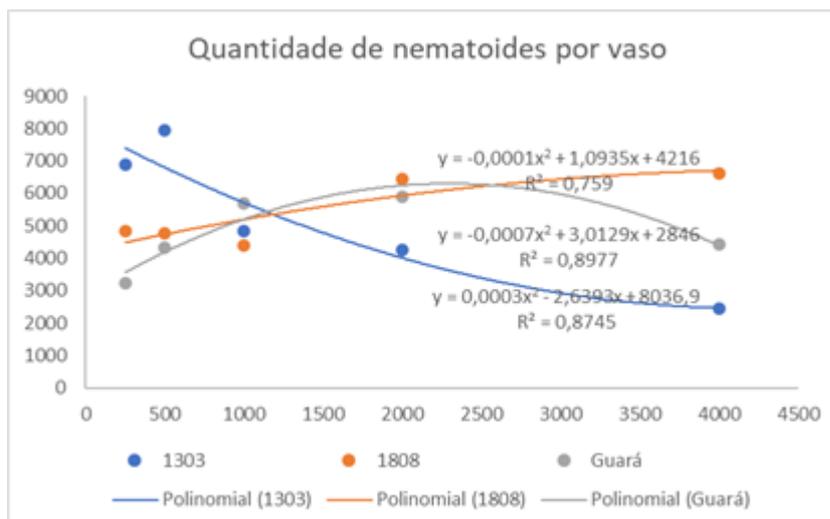


Figura 1 - Comportamento dos genótipos 1303, 1808 e Guará de quinoa, confrontados com populações de *Pratylenchus brachyurus* para a variável quantidade total de nematoides por vaso.

Já para a variável nematoides por grama de raiz, o genótipo 1303 manteve-se praticamente constante em todas as populações, exceto na população inicial de 4.000 nematoides, onde houve um decréscimo. O genótipo 1808 comportou-se de maneira inesperada, onde o número de nematoides por grama de raiz na população inicial de 250 nematoides por vaso foi maior do que a encontrada na população de 500 nematoides por vaso, aumentando novamente na população de 1.000 e decaindo novamente na de 2.000, tendo seu maior número nesta variável na pressão de população mais alta, 4.000 nematoides por vaso. O genótipo Guará aumentou a quantidade de nematoides por grama de raiz, conforme o aumento da pressão de população, até a mais alta, de 4.000, onde decaiu (Figura 2).

Para a variável fator de reprodução, os três genótipos se comportaram de forma muito similar, onde os fatores de reprodução começaram altos e diminuiriam exponencialmente conforme o aumento da população (Figura 3).

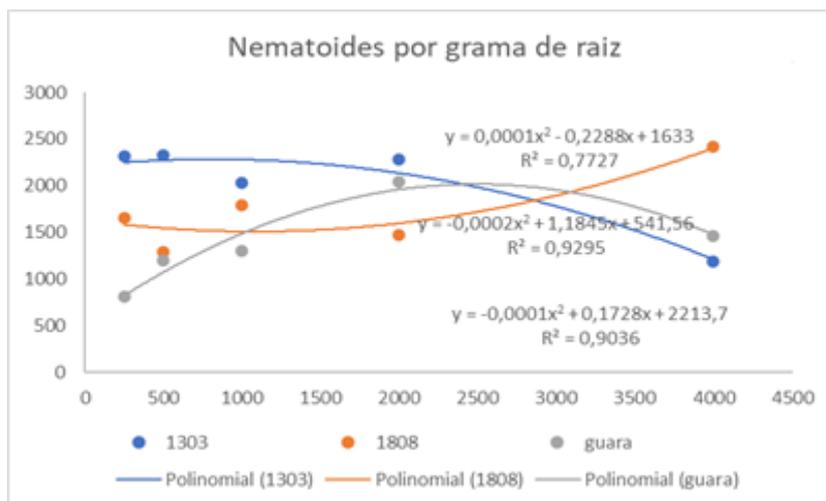


Figura 2 - Comportamento dos genótipos 1303, 1808 e Guará de quinoa, confrontados com populações de *Pratylenchus brachyurus* para a variável nematoides por grama de raiz. Análise de regressão a 5% de probabilidade.

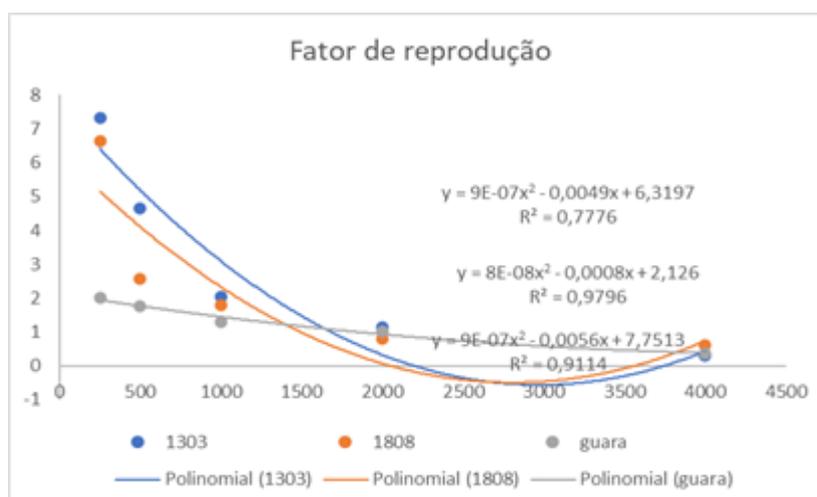


Figura 3 - Comportamento dos genótipos 1303, 1808 e Guará de quinoa, confrontados com populações de *Pratylenchus brachyurus* para a variável: Fator de reprodução. Análise de regressão a 5% de probabilidade.

Como é possível observar em todos os genótipos, existe um ponto de máxima população, que foi diferente para cada genótipo, mas no geral de deu entre 1.000 a 2.000 nematoides por planta, onde a partir dele, a concentração de inóculo ultrapassar esse ponto de máxima, não havendo espaço vital nas raízes das plântulas inoculadas para todos os indivíduos penetrarem e se estabelecerem, ou seja, a partir desse ponto os resultados como quantidade final de nematoides serão afetados devido a competição por espaço e nutrientes (CARVALHO et al., 2023).

No trabalho de Ferraz (1995), o autor testou três diferentes cultivares de soja, com populações de 0, 200, 1.000 e 5.000 *P. brachyurus* por planta, e os resultados encontrados para o fator de reprodução foram muito semelhantes aos demonstrados no presente trabalho, onde o FR começava alto e ia diminuindo nas populações iniciais maiores, chegando a valor abaixo de 1. Os autores ressaltam a dificuldade de estabelecer os níveis ideais de inoculação para a experimentação, uma vez extrapolados, podem levar a resultados não condizentes com a realidade.

Dentre os parâmetros utilizados para medição da resposta ao parasitismo de nematoides, o FR é o mais preciso, sendo sensível a alteração da quantidade de inóculo e período anual de inoculação para quantificar o nível de resistência na interação planta-nematoide. Trabalhar com diferentes níveis populacionais é essencial para identificar falsos-positivos e determinar realmente a reação do material ao fitonematoide (CAVALCANTE JUNIOR et al., 2020).

Em contrapartida dos resultados encontrados neste trabalho, no trabalho de Santos et al. (2015) verificou-se aumento do fator de reprodução proporcional ao aumento de inóculo inicial, onde foram testados 0, 300, 600, 900 e 1.200 *P. brachyurus* em soja. Neste caso, as cultivares de soja testadas se mostraram suscetíveis ao nematoide, diferente da quinoa, que tem demonstrado resistência.

Oliveira et al. (1999) testaram diferentes cultivares de café com diferentes níveis populacionais de *P. brachyurus* e observaram que mesmo nos níveis populacionais mais baixos as cultivares se mostraram suscetíveis, demonstrando que os resultados dos testes populacionais estão correlacionados diretamente com a resistência da planta testada.

4.4 Análises bioquímicas para verificar atividade das enzimas relacionadas a defesa vegetal

Afim de compreender a resistência e a suscetibilidade encontrada nos genótipos de quinoa confrontados com *P. brachyurus*, foram medidas a atividade de três enzimas em função do tempo (dias após inoculação (DAI)): polifenoloxidase (PFO), fenilalanina amônia-liase (FAL) e peroxidase (POX), além do teor de proteínas totais.

4.4.1 Polifenoloxidase

A PFO não apresentou atividade em nenhum dos genótipos, em nenhum dos tempos de coleta.

A ausência de polifenoloxidase foi relatada em amêndoas cruas por Silva e Fernandes (2011), que avaliaram que estas não sofreram escurecimento enzimático. Da mesma forma, no trabalho de Medeiros (2015), utilizando óleos essenciais de alecrim na concentração 1% em couve manteiga, não houve atividade enzimática de PFO.

No trabalho de Da Mata (2022) também não foi encontrado atividade de PFO. O autor relata que esta enzima pode ser inibida por uma série de agentes quelantes, como por exemplo cianeto, monóxido de carbono, tropolona, 2-mercaptobenzotiazol, azida, ácido cítrico e ácido etileno diamino tetra cético. O ácido ascórbico (vitamina C) e seus vários sais neutros são os principais antioxidantes que podem reagir irreversivelmente com as o-quinonas anulando o efeito da polifenoloxidase pelo sequestro de cobre (SAPERS; MILLER, 1998).

Sabendo disso, o trabalho de Gouveia, Frangella e Assis Excel (2012) demonstrou que a quinoa possui 50 mg 100 g⁻¹ de vitamina C, além de altas concentrações de tocofenóis e carotenoides, o que pode explicar a falta de atividade da PFO em trabalhos realizados com a quinoa.

Além disso, no trabalho de Fischer et al. (2017), demonstrou-se que alta quantidade de água no início do desenvolvimento das sementes pode diminuir a quantidade de polifenóis totais nos brotos. Isto é algo que pode ter acontecido no presente experimento, uma vez que este foi conduzido no verão, em casa de vegetação e por vezes eram necessárias duas irrigações por dia, o que pode ter contribuído para o resultado encontrado.

4.4.2 Fenilalanina amônia-liase

Ao analisar a curva de resposta da atividade da enzima relacionada a defesa vegetal, Fenilalanina amônia-lise (FAL), podemos observar que os genótipos 1303 e 1808 se comportaram de forma bastante semelhante. Ambos apresentaram picos que os diferiram estatisticamente do genótipo Guará às 120 e 172 horas após a inoculação, apesar de que o genótipo 1808 no tempo de 120 horas após a inoculação, também aparece como um intermediário entre o

genótipo 1303 e guará. O genótipo Guará, apesar de apresentar visualmente um pico às 36 horas após a inoculação, não demonstrou diferença estática nas primeiras medições, e nas medições de 120 e 172 horas após a inoculação demonstrou-se inferior as demais (Figura 4).

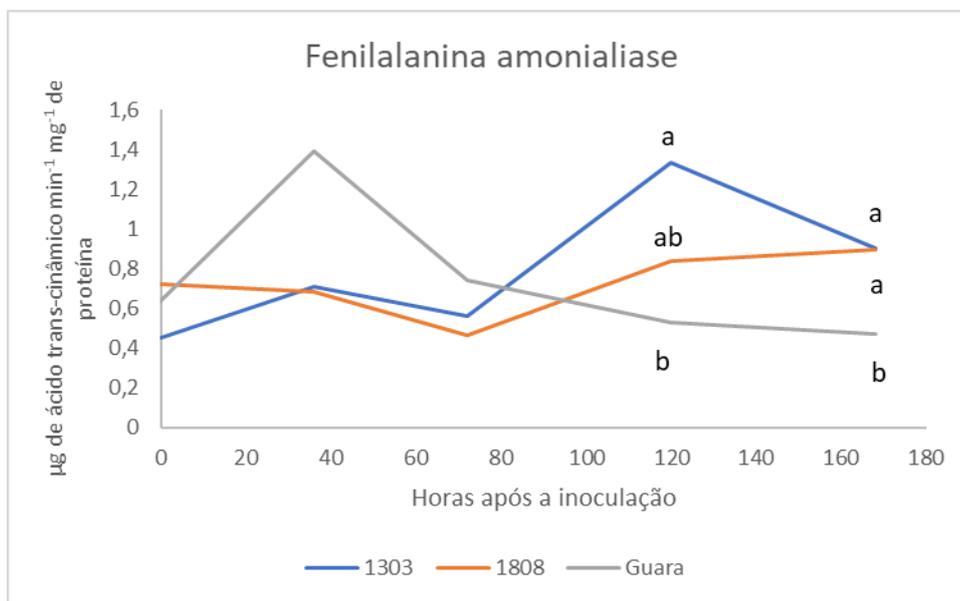


Figura 4 – Atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) em função do tempo após a inoculação de genótipos de quinoa com *Pratylenchus brachyurus*.

Dois picos de FAL também foram encontrados no trabalho de Lorenzetti et al. (2018), onde os autores esclareceram que o primeiro pico de atividade, esta ligado ao processo infeccioso em si, a primeira resposta da planta ao identificar a presença do patógeno. Já o segundo pico está relacionado principalmente ao processo de indução da resistência. Visto que os genótipos 1808, que demonstrou resistência e o 1303, que demonstrou baixa suscetibilidade, diferenciaram-se estatisticamente do genótipo Guará às 172 horas após a inoculação, ou seja, no segundo pico observado, é possível que os mecanismos de defesa tenham sido ativados pela rota da FAL. Já a não atividade estatística observada no genótipo Guará, demonstra que, apresentar alguma atividade de FAL, esta não foi o suficiente para ativar os mecanismos de defesa por esta via, o que explicaria, em partes, sua alta suscetibilidade.

No trabalho de Bezerra (2016) foram testados cultivares resistentes e suscetíveis de feijão-de-corda, inoculados com o vírus do mosaico severo do caupi. A atividade da FAL dos genótipos suscetíveis nas plantas inoculadas com

o vírus decaiu com o passar do tempo. Essa tendência pode levar a uma menor produção de compostos fenólicos, já que a inibição da FAL afeta as vias biossintéticas desses compostos. As cultivares resistentes testadas mostraram tendência de aumento de atividade a partir de 24 HAI até 72 HAI, e, no final do experimento, essas diferenças nas cinéticas da atividade da FAL e os relatos existentes na literatura, sugerem associação dessa enzima com a resistência dos genótipos.

A FAL apresenta grande importância no metabolismo secundário das plantas. Sua função é a catalisação e a eliminação não oxidativa da amônia da L-fenilalanina, transformando-a em ácido trans-cinâmico, que é o primeiro produto formado na rota biossintética dos fenilpropanoides em plantas. Esta é a primeira enzima que atua na síntese de compostos fenólicos, e sua atividade está diretamente envolvida na resposta à infecção por fitopatógenos (KUHN, 2007; SILVA, 2018).

4.4.3 Peroxidase

Na atividade de Peroxidase (POX), podemos observar novamente dois picos de atividade enzimática. Porém, dessa vez, o primeiro pico é apresentado apenas pelo genótipo 1303 na análise dos tecidos no momento da inoculação. Já o segundo pico os genótipos 1303 e Guará diferiram estatisticamente do genótipo 1808, no ponto de 72 horas após a inoculação. Também podemos observar que o genótipo 1808 manteve-se estável em todos os tempos medidos, e ainda demonstrando-se estatisticamente inferior nos dois pontos de pico observados (Figura 5).

As peroxidases, classificadas como proteínas RP, apresentam várias funções na defesa celular, pela sua participação na lignificação, suberização e metabolismo de parede celular. As peroxidases têm sua atividade elevada em resposta ao processo infeccioso de um patógeno, e ao estresse oxidativo e ambiental. Deste modo, são utilizadas como indicadores de resposta de defesa das plantas. São responsáveis pela catálise da redução de peróxido de hidrogênio em oxigênio e água, também fazem parte de vias metabólicas envolvidas na oxidação de compostos fenólicos (PASCHOLATI e DALIO, 2018). A presença de um patógeno efetor pode desencadear uma resposta de defesa

chamada de imunidade desencadeada por efetor. As Proteínas RP estão frequentemente associadas à resistência qualitativa (DODDS & RATHJEN, 2010)

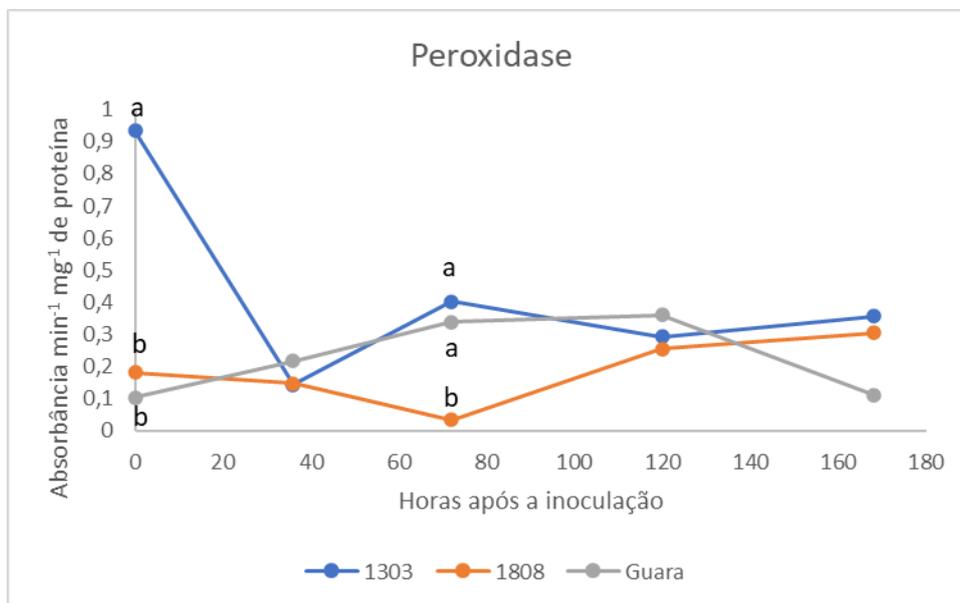


Figura 5 – Atividade da enzima peroxidase (POX) em função do tempo após a inoculação de genótipos de quinoa com *Pratylenchus brachyurus*.

No trabalho de Schons et al. (2021) foram observados dois picos de peroxidase, um aos 10 dias após a inoculação e outro menor aos 50 dias após a inoculação de *M. incognita* em tomateiro. Essa diferença do tempo em que os picos são relatados nos trabalhos se deve ao ciclo dos nematoides: o ciclo de *M. incognita* é muito mais longo do que o ciclo de *P. brachyurus*, portanto, os resultados podem ser comparados. O autor ressalta que o segundo pico ser menos elevado que o primeiro, se deve ao processo de colonização dos tecidos do hospedeiro pelo patógeno, momento em que vários mecanismos de defesa se expressam de maneira simultânea. Demonstrando que o genótipo 1303 provavelmente também ativou essa rota em sua tentativa de defesa contra o *P. brachyurus*. Observando a atividade de POX, podemos levar em consideração que, apesar de se mostrar altamente suscetível, o genótipo Guará tentou ativar vias de defesa vegetal, porém o mesmo não foi bem sucedido, por motivos que precisam de melhor investigação.

Campos et al. (2004) relatam que após a inoculação de *Colletotrichum lindemuthianum* em cultivares de feijão, a cultivar resistente testada apresentou

rapidamente atividade de peroxidase, logo após a inoculação, mantendo-se mais elevada em todas as avaliações em decorrer do tempo quando comparada a cultivar suscetível, que demonstrou níveis de peroxidase, porém, estes foram considerados baixos, tais quais os comportamentos dos genótipos 1808 e Guará (no primeiro pico). Os autores ressaltam que a biossíntese de compostos secundários depende da constituição genética da planta, que determina a formação das enzimas de especialização correspondentes.

Boava et al. (2010) relataram que plantas de eucalipto, antes de serem submetidas a tratamentos, demonstravam certa atividade de peroxidase, onde plantas moderadamente resistentes, apresentavam atividade de 0,6 unidades de absorvância $\text{min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$, enquanto que plantas suscetíveis apresentavam atividade de 0,8 unidades de absorvância $\text{min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$, isso devido a peroxidase fazer parte da atividade normal da planta, não sendo relacionada apenas com mecanismos de resistência vegetal.

Corroborando com o resultado de baixa atividade de peroxidase no genótipo resistente 1808, Araújo et al. (2008) mostram que a atividade de peroxidase em cultivares consideradas suscetíveis de microtangerinas infectadas com *Phytophthora parasitica* foi, por vezes, maior do que as encontradas em cultivares consideradas resistentes, evidenciando que a atividade de peroxidase na planta aumenta quando esta se encontra submetida a condições de estresses, no caso quando afetada por um patógeno.

4.4.1 Proteínas totais

Para o teor de proteínas totais (PT), pode se observar uma atividade não continua nos três genótipos testados. No momento logo após a inoculação, o genótipo 1303 demonstra-se superior ao Guará, porém semelhante ao 1808, que, por sua vez, não se diferencia estatisticamente do genótipo Guará. Já na medição realizada com a amostra de 120 horas após a inoculação, pode se observar o Guará sendo estatisticamente superior ao 1303, porém semelhante ao 1808, que demonstrou-se estatisticamente semelhante ao 1303. Na medição final, de 172 horas após a inoculação, o genótipo 1303 demonstrou maior atividade de PT que os outros dois genótipos. Ou seja, a cada momento de

medição, os genótipos revezavam-se quanto ao maior teor de proteínas totais. (Figura 6).

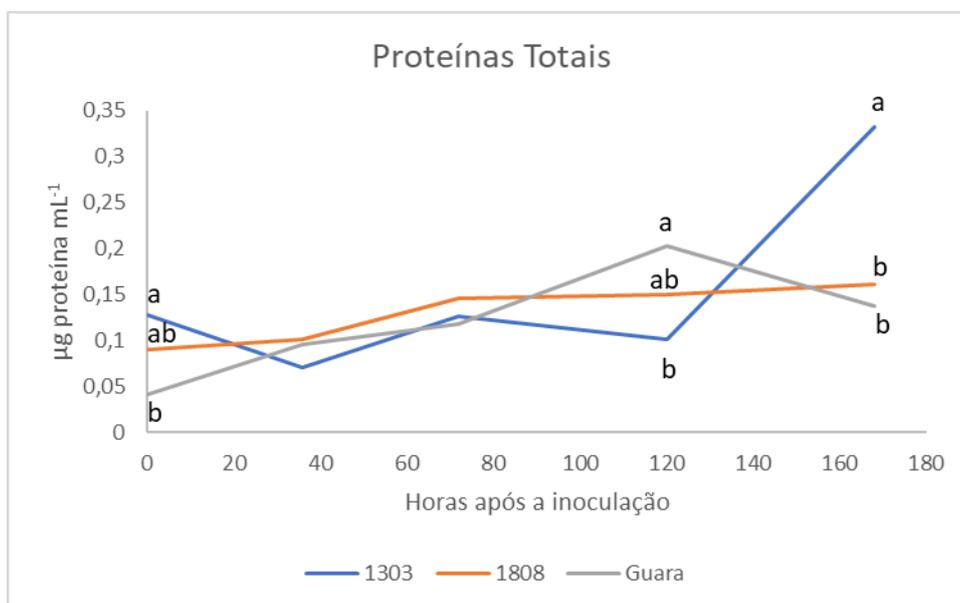


Figura 6 – Atividade Proteínas totais em função do tempo após a inoculação de genótipos de quinoa com *Pratylenchus brachyurus*.

O conteúdo de proteínas no tecido vegetal desafiado com o patógeno ou tratado com eliciador indica a ativação dos mecanismos de defesa (MEINERZ, 2013). A relativa atividade de proteínas totais para todos os genótipos testados demonstra que houve tentativa da ativação dos mecanismos de defesa, mesmo nos genótipos suscetíveis, porém, a ativação desses mecanismos não garante o sucesso da resistência. Provavelmente outro fator não estudado neste trabalho levou o genótipo Guará a demonstrar tão alta suscetibilidade em relação ao *P. brachyurus*.

Outra conclusão que se pode encontrar, visto não apenas a avaliação de proteínas totais, mas também as demais análises bioquímicas, é que a resistência do genótipo 1808 provavelmente vem da rota de ativação dos mecanismos de defesa vegetal mediada pela enzima FAL e talvez corroborada por outras vias não estudadas. Enquanto a baixa suscetibilidade do genótipo 1303 é bem exemplificada pelas análises bioquímicas, uma vez que este demonstrou expressão de FAL, POX e também picos de atividade no teor de proteínas totais, demonstrando que sua baixa suscetibilidade venha da ativação dos mecanismos de defesa vegetal.

5. CONCLUSÕES

Dos 10 genótipos de quinoa, 7 comportaram-se como resistentes, 2 como baixo grau de suscetibilidade e um com alto grau de suscetibilidade a *P. brachyurus*, demonstrando que cada genótipo pode responder de uma forma quando confrontado com o nematoide. Isso indica a necessidade de estudos mais aprofundados na relação desse patossistema.

No geral, o comportamento dos genótipos manteve-se o mesmo em diferentes populações. A quantidade de inóculo ideal para experimentos desse patossistema encontra-se na faixa de 1.000 a 2.000 nematoides inoculados por vaso.

A quinoa não apresentou atividade da enzima polifenoloxidase. A resistência do genótipo 1808 pode ser explicada com os picos da FAL, que provavelmente foi a via de sinalização para a ativação de mecanismos de defesa vegetal. Já a baixa suscetibilidade do genótipo 1303 ficou bem exposto, devido a sua alta atividade nas enzimas FAL e POX, porém algum outro fator fez com que esse genótipo não fosse completamente resistente, apesar da sinalização das vias enzimáticas. Já a alta suscetibilidade do genótipo Guará é um pouco mais complexo de ser entendido e necessita de estudos mais aprofundados para entendê-lo.

6. REFERÊNCIAS

ABDELBAR, O. H. Flower vascularization and fruit developmental anatomy of quinoa (*Chenopodium Quinoa* Willd) Amaranthaceae. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 63, n. 1, p. 67–75, 2018.

ADAPAR. **Agrotóxicos no Paraná: faça sua pesquisa**. 2023. Disponível em: <<http://celepar07web.pr.gov.br/agrotoxicos/pesquisar.asp>>. Acesso em: 15 nov. 2023.

ALANDIA, G.; RODRIGUEZ, J. P.; JACOBSEN, S. E.; BAZILE, D.; CONDORI, B. Global expansion of quinoa and challenges for the Andean region. **Global Food Security**, v. 26, p. 100429, 2020.

ALCÂNTARA NETO, F.; DELPUPO, K. C.; SILVA, G. S. D.; GRAVINA, G. D. A.; MELO, M. P. D.; BESERRA JÚNIOR, J. E. A. Folhas de girassol mexicano como alternativa no manejo de *Pratylenchus brachyurus* em quiabeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 44, p. 267-270, 2018.

ALMEIDA, H. O.; BARBOSA, M. O.; MARQUES, A. E.; PEREIRA, T. H. A.; MAGALHÃES-JÚNIOR, M. J.; TESSAROLLO, N. G.; GAMES, P. D.; BARROS, E. G.; STOLF-MOREIRA, R.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; ABDELNOOR, R. V.; PEREIRA, P. R. G.; BARACAT-PEREIRA, M. C. Enzimas marcadoras de indução de resistência diferencialmente reguladas em soja resistente e suscetível à ferrugem asiática da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 2, p. 163-172, 2012.

ALMEIDA, S. G.; SÁ, W. A. C. Amarantho (*Amaranthus* ssp.) e quinoa (*Chenopodium quinoa*) alimentos alternativos para doentes celíacos. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 13, n. 1, p. 77-92, 2009.

ANGELI, V.; SILVA, P. M.; MASSUELA, D. C.; KHAN, M. W.; HAMAR, A.; KHAJEHEI, F.; GRAEFF-HÖNNINGER, S.; PIATTI, C. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): An overview of the potentials of the “golden grain” and socio-economic and environmental aspects of its cultivation and marketization. **Foods**, v. 9, n. 2, p. 216, 2020.

APAZA, V.; CACERES, G.; ESTRADA, R.; PINEDO, R. Catálogo de variedades comerciales de quinua en el Perú. Lima: **Instituto Nacional de Innovación Agraria**, 2013.

APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, n. 2 p. 105-121, 2009.

ARAÚJO, J. R. G.; BROETTO, F.; SALIBE, A. A.; FEICHTENBERGER, E. Alteração na atividade de peroxidase e concentração de fenóis em microtangerinas (*Citrus* spp.) infectadas por *Phytophthora parasitica*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 6, n. 1, p. 01-05, 2008.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.

BAZILE, D.; BERTERO, D.; NIETO, C. (2016). State of the art report on quinoa around the world in 2013. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-i4042e.pdf>.

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K.; HILHORST, H. Seeds: physiology of development, germination and dormancy. **Springer Science & Business Media**. 2012.

BEZERRA, E. A. **Respostas bioquímicas comparativas de genótipos suscetíveis e resistentes de feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] desafiados com o vírus do mosaico severo do caupi (CPSMV)**. 2016. 93 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

BHARGAVA, A.; SHUKLA, S.; OHRI, D. *Chenopodium quinoa* – an Indian perspective. **Industrial Crops and Products**, v. 23, p. 73-87, 2006.

BOAVA, L. P.; KUHN, O. J.; PASCHOLATI, S. F.; DI PIERO R. M.; FURTADO, E. L. Efeito de indutores bióticos e abióticos na atividade de quitinase e peroxidase e no controle da ferrugem causada por *Puccinia psidii* em eucalipto. **Summa Phytopathologica**, v.36, n.2, p.168-172, 2010.

BOCALINI, P. H. V. **Hospedabilidade de *Chenopodium quinoa* "BRS Piabiru" a *Meloidogyne incognita* e *M. javanica***. 2021. 134 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Botucatu, 2021.

BRADFORD, M. M. 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.

CAMPOS, A. D.; FERREIRA, A. G.; HAMPE, M. M. V.; ANTUNES, I. F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E. P.; OSÓRIO, V. A.; AUGUSTIN, E. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 7, p. 637-643, 2004.

CARVALHO, R. M.; PORTO, A. C. F.; PEDROSA, E. M. R.; DA SILVA VICENTE, T. F.; DA SILVA, L. M. A.; SILVA, R. D. C. Z.; SILVA, R. C. Z.; ASSUNÇÃO, E. F.; GUIMARÃES, L. M. P. Flutuação populacional de *Meloidogyne* e *Pratylenchus* em campos cultivados com diferentes variedades de cana-de-açúcar em áreas de estados do nordeste do Brasil. **Delos: Desarrollo local sostenible**, v. 16, n. 44, p. 1203-1220, 2023.

CASTILLO, P.; STANLEY, J.; INSERA, R.N.; MANZANILLA-LOPEZ, R.H. Pratylenchidae – the lesion nematodes. In: MANZANILLA-LOPEZ, R.H.;

MARBANMENDOZA, N. **Practical plant nematology**. Montecillo: Colégio de postgraduados, 2012. Cap. 16, p. 411-478.

CASTILLO-RUIZ, M.; CAÑON-JONES, H.; SCHLOTTERBECK, T.; LOPEZ, M. A.; TOMAS, Á.; SAN MARTÍN, R. Safety and efficacy of quinoa (*Chenopodium quinoa*) saponins derived molluscicide to control of *Pomacea maculata* in rice fields in the Ebro Delta, Spain. **Crop Protection**, v. 111, p. 42-49, 2018.

CAVALCANTE JUNIOR, E. A.; MORAES FILHO, R. M. ROSSITER, J. G. A.; MONTARROYOS, A. V. V.; MUSSER, R. S.; MARTINS, L. S. S. Reação de genótipos do gênero *Psidium* spp. a *Meloidogyne enterolobii*. **Summa Phytopathologica**, v. 46, n. 4, p. 333-339, 2020.

CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STANGARLIN, J. R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L. S. et al. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. cap. 2, p. 81-124.

COLLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the Quantitative Extraction of Nematodes from Plant Tissue**. State Nematology and Entomology Research Station. Ohio, p. 77, 1972.

DA MATA, T. C. **Formulado a base de alecrim para controle de *Alternaria brassicae* e *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* em couve folha**. 2022. 101 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2022.

DANIELSEN, S.; BONIFACIO, A.; AMES, T. Diseases of quinoa (*Chenopodium quinoa*). **Food Reviews International**, v. 19, n. 1-2, p. 43-59, 2003.

DE MELO SANTAN-GOMES, S.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; ANTUNES, J. C.; SCHWENGBER, R. P.; BALSIDERA, S. S. Reprodução de *Pratylenchus zeae* e *P. brachyurus* em plantas de cobertura. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 2, p. 295-301, 2019.

DODDS, P. N.; RATHJEN, J. P. Plant immunity: towards an integrated view of plant pathogen interactions. *Nature Reviews Genetics* v. 11, p. 539–548, 2010.

DOS SANTOS, L. P.; PEREIRA, W. J.; DA SILVA, D. Z.; GONÇALVES, D. J.; ALVES, G. C. S.; PINHEIRO, J. B.; DA SILVA, G. O.; CASTRO E MELO, R. A.; NASCIMENTO, W. M.; DA SILVA, P. P. Resistência de genótipos de grão-de-bico a *Meloidogyne javanica* e *Pratylenchus brachyurus* em condições de campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 56, p. 25-29, 2021.

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, p. 351-359, 1999.

EVES-VAN DEN AKKER, S. Plant–nematode interactions. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 62, p. 102-135, 2021.

FABIYI, O. A.; ATOLANI, O.; OLATUNJI, G. A. Toxicity Effect of *Eucalyptus globulus* on *Pratylenchus* spp. of *Zea mays*. **Sarhad Journal of Agriculture**, v. 36, n. 4, 2020.

FARINAZZI-MACHADO, F. M. V.; BARBALHO, S. M.; OSHIWA, M.; GOULART, R.; PESSAN JÚNIOR, O. Consumo de barras de cereais com quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) para reduzir fatores de risco de doenças cardiovasculares. **Food Science and Technology**, v. 32, p. 239-244, 2012.

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

FERRAZ, L. C. C. B. Patogenicidade de *Pratylenchus brachyurus* a três cultivares de soja. **Nematologia Brasileira**, v. 19, n. 1, p. 2-8, 1995.

FERRAZ, L. C. C.; BROWN, D. J. F. Nematologia de plantas: fundamentos e importância. **Norma editora**, cap. 8, p. 151-165, 2016.

FERRAZ, L. C. C.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; FILHO, A. B. (Eds) **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 3 ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres Ltda, 2011. Cap. 15, p. 277-305.

FISCHER, S.; WILCKENS, R.; JARA, J.; ARANDA, M.; VALDIVIA, W.; BUSTAMANTE, L.; GRAF, F.; OBAL, I. Protein and antioxidant composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) sprout from seeds submitted to water stress, salinity and light conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 107, p. 558-564, 2017.

FLEMING, J. E.; GALWEY, N. W. Quinoa (*Chenopodium quinoa*). In: WILLIAMS, J. T., (ed). **Cereals and Pseudocereals**. London: Chapman & Hall, 1995. p. 3-83.

FORMENTINI, H. M. **Avaliação de indutores de resistência bióticos, abióticos e extratos vegetais no controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro**. 2012. 93 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2012.

GABRIEL, M.; KULCZYNSKI, S. M.; BELLE, C.; KIRSCH, V. G.; CALDERAN-BISOGNIN, A. Reação de gramíneas forrageiras a *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus brachyurus*. **Nematropica**, v. 48, n. 2, p. 155-163, 2018.

GALWEY, N. W. The potential of quinoa as a multi-purpose crop for agricultural diversification: a review. **Industrial Crops and Products**, v. 1, n. 1, p. 101-106, 1993.

GAO, H.; QI, G.; YIN, R.; ZHANG, H.; LI, C.; ZHAO, X. *Bacillus cereus* strain S2 shows high nematicidal activity against *Meloidogyne incognita* by producing sphingosine. **Scientific Reports**, v. 6, n. 6, p. 1-11, 2016.

GIUSTI, L. El genero *Chenopodium* en Argentina 1: Numeros de cromosomas. **Darwiniana**, v. 16, p. 98–105, 1970.

GONZAGA, V.; SANTOS, J. M.; MENDONÇA, R. S.; SANTOS, M. A. Gênero *Pratylenchus*. In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S. **Diagnose de fitonematoides**. 1 ed. Editora: Millenium, 2016. cap. 4, p. 71-93.

GOUVEIA, L. A. G.; FRANGELLA, V. S.; ASSIS EXCEL, M. O. Quinoa: propriedades nutricionais e aplicações. **Nutrição Brasil**, v. 11, p. 56-61, 2012.

GOVERSE, A.; SMANT, G. The activation and suppression of plant innate immunity by parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 52, p. 1–23, 2014.

GUSSI, L. G. **Resistência de *Chenopodium quinoa* “BRS Piabiru” à *Heterodera glycines* e *Meloidogyne enterolobii***. 2021. 66 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Agronomia - Universidade Estadual Paulista, Botucaru, 2018).

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

HUSSAIN, M. A.; MUKHTAR, T.; KAYANI, M. Z. Reproduction of *Meloidogyne incognita* on resistant and susceptible okra cultivars. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 53, n. 2, p. 371–375, 2016.

INOMOTO, A. Manejo Cultural de Fitonematoides. In: GALBIERI R.; BELOT L. J. **Nematoides fitoparasitas do algodoeiro nos cerrados brasileiros: biologia e medidas de controle**. 2 ed. Instituto Mato-grossense do Algodão, 2016. cap. 7. p. 257-287.

JACOBSEN, S. E. The worldwide potential for quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). **Food Reviews International**, v. 27, n. 2, 175-182, 2011.

JACOBSEN, S. E.; MUJICA, A.; JENSEN, C. R. The resistance of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to adverse abiotic factors. **Food Reviews International**, v. 19, n. 2, p. 99-109, 2003.

JANCUROVÁ, M.; MINAROVIČOVÁ, L.; DANDAR, A. Quinoa—a rewiev. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 27, n. 2, p. 71-79, 2009.

JOHNSON, D. L.; CROISSANT, R. L. Quinoa Production in Colorado. **Service-In- Action** n. 112. Fort Collins, Colorado: Colorado State University Cooperative Extension, 1985.

KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. 2007. 140p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

LEANDRO, H. M.; ASMUS, G. L. Rotação e sucessão de culturas para o manejo do nematoide reniforme em área de produção de soja. **Ciência Rural**, v. 45, p. 945-950, 2015.

LORENZETTI, E.; STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; PORTZ, R. L. Indução de resistência à *Macrophomina phaseolina* em soja tratada com extrato de alecrim. **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 1, p. 45-50, 2018.

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, n. 3, p. 244-249, 1999.

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

MARCOS FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, v. 72, n. 4, p. 363-374, 2015.

MARQUES, J. P. R.; SOARES, M. K. M. **Manual de técnicas aplicadas à Histopatologia Vegetal**. Digitaliza Conteúdo, 2023.

MATTEI, D. **Alterações bioquímica e física da soja tratada com silicato de potássio visando o controle de *Meloidogyne incognita***. 2018. 116 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2018.

MAUGHAN, P. J.; SMITH, S. M.; ROJAS-BELTRÁN, J. A.; ELZINGA, D.; RANEY, J. A.; JELLEN, E. N.; BONIFACIO, A.; UDALL, J. A.; FAIRBANKS, D. J. Single nucleotide polymorphism identification, characterization, and linkage mapping in quinoa. **The Plant Genome**, v. 5, n. 3, 2012.

MEDEIROS, C. **Alterações bioquímicas e fisiológicas em couve submetidas à aplicação de óleos essenciais e húmus de minhoca**. 2015. 59 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

MEINERZ, D. **Aspectos bioquímicos, fisiológicos e de crescimento de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) tratado com extratos vegetais e fúngico**. 2013. 104 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2013.

MELLO, A. F. S.; MACHADO, A. C. Z.; INOMOTO, M. M. Potencial de controle da erva-de-Santa-Maria sobre *Pratylenchus brachyurus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 513-516, 2006.

MENDONZA-LIMA, M. Y.; CASA-RUIZ, T. G.; BELLÉ, C. Reacción de *Chenopodium quinoa* a diferentes espécies de *Meloidogyne*. **Revista de Investigaciones Altoandinas**, v. 22, n. 4, p. 343-346, 2020.

MUJICA-SANCHEZ, A.; JACOBSEN, S. E.; EZQUIERDO, J.; MARATHEE, J. P. Resultados de la Prueba Americana y Europeas de la Quinoa. **FAO, UNA-Puno, CIP**, p. 51, 2001.

NICHOLSON, R. L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Plant Pathology**. Palo Alto, v. 107, p. 19-28, 1992.

OLIVEIRA, C. M. G., INOMOTO, M. M., VIEIRA, A. M. C., & MONTEIRO, A. R. Efeito de densidades populacionais de *Pratylenchus brachyurus* no crescimento de plântulas de *Coffea arabica* cv. Mundo novo e *C. canephora* cv. Apoatá. **Nematropica**, p. 215-221, 1999.

LOWE, T.; CORBETT, D. C. M. Morphology and morphometrics of *Pratylenchus brachyurus* and *P. zaei* II. Influence of environmental factors. **Indian Journal of Nematology**, v. 14, n. 1, p. 6-17, 1984.

OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematode and plants. **Mededelingen Landbouhogeschool**. Wageningen, v. 66, n. 04, p. 3-46, 1966.

PASCHOLATI, S. F.; DALIO, R. J. D. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos patógenos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN-FILHO, A. **Manual de Fitopatologia, volume 1: princípios e conceitos**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres Ltda, 2018. cap. 35, p. 424-450.

PATHAN, S.; SIDDIQUI, R. A. Nutritional composition and bioactive components in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) greens: A review. **Nutrients**, v. 14, n. 3, p. 558-566, 2022.

PORTO, A. C. F.; PEDROSA, E. M. R.; GUIMARAES, L. M. P.; MARANHÃO, S.; CARDOSO, M. S. Management of Plant-Parasitic Nematodes on Sugarcane under Tropical Conditions In: SINGH, P.; TWARI, A. K. **Sustainable Sugarcane Production**. 1 ed. New Jersey: Apple Academic Press, 2018. Cap. 11, p. 389-426.

ROCHA, J. E. S. **Controle genético de caracteres agronômicos em quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd)**. 2011. 144 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2011

ROJAS, W.; PINTO, M. La diversidad genética de quinoa de Bolivia. En: VARGAS, M. **Congreso Científico de la Quinoa (Memorias)**. La Paz, Bolivia. 2013. p 77-92.

SANKAR, C.; SOORIANATHASUNDARAM, K.; KUMAR, N; KARUBAKARAN, G.; SIVAKUMAR, M. Induction of resistant to *Radopholus similis* and defence related mechanism in susceptible and resistance banana hybrids infected with *Radopholus similis*. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 4, p. 1668–1684, 2017.

SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A. de; ARAUJO FILHO, J. C. de; OLIVEIRA, J. B. de; CUNHA, T. J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. Brasília, 2013. 353p.

SANTOS, T. F. S.; POLIZEL, A. C.; RIBEIRO, N. R.; SILVA, T. J. A.; GUIMARÃES, S. L. Reprodução de *Pratylenchus brachyurus* em diferentes níveis de inóculo e tempo de avaliação em três cultivares de soja. **Nematropica**, v. 45, n. 1, p. 43-50, 2015.

SAPERS, G. M.; MILLER, R. L. Browning inhibition in fresh-cut pears. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 2, p. 342-346, 1998.

SAS Institute Inc., **SAS University Edition: Instalation guide**. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2014.

SCHONS, B. C.; BRITO, O. D.; CECATTO JUNIOR, R.; TSUTSUMI, C. Y.; STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J. Rosemary extract formulated with hydrogel in the control of root-knot nematode and in the activation of defense mechanisms in tomato. **Horticultura Brasileira**, v. 40, p. 107-114, 2022.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. A. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S. F. A.; LEITE, B.; STANGARLIN, J. R.; CIA, P. **Interação planta-patógeno: Fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. V. 13, Piracicaba: FEALQ, 2008. cap. 6, p. 227-248.

SILVA, A. G. M.; FERNANDES, K. F. Composição química e antinutrientes presentes nas amêndoas cruas e torradas de chicha (*Sterculia striata* A. St. Hill & Naudin). **Revista de Nutrição**, v. 24, p. 305-314, 2011.

SILVA, L. D. A.; BRITO, M. E.; DA S, S.; FRANCISCO, V.; MOREIRA, R. C.; SOARES FILHO, W. D. S.; FERNANDES, P. D. Mecanismos fisiológicos em híbridos de citros sob estresse salino em cultivo hidropônico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, p. 51-57, 2014.

SILVA, L. M. A.; PEDROSA, E. M. R.; SILVA VICENTE, T. F.; DE OLIVEIRA CARDOSO, M. S.; CASTRO, D. B.; ROLIM, M. M. Seasonal variation of plant-parasitic nematodes and relationship with nutritional and growth properties of sugarcane plantations. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, n. 2, p. 132-136, 2017.

SILVA, P. A. G. **Leveduras para o controle da helmintosporiose em milho (*Zea mays*)**. 2018. 103 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Biociências) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

SILVA, R. A.; NUNES, N. A.; SANTOS, T. F. S.; IWANO, F. K. Efeito da rotação e sucessão de culturas no manejo de nematoides da soja em área arenosa. **Nematropica**, v. 48, n. 2, p. 198-206, 2018.

SOUZA, D. H. G. **Indução de resistência em soja e controle de *Pratylenchus brachyurus* com fertilizante foliar a base de alecrim (*Rosmarinus officinalis*)**

L.). 2020. 42 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2020.

SPEHAR, C. R. Adaptação da quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) para incrementar a diversidade agrícola e alimentar no Brasil. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 23, n. 1, p. 41-62, 2006.

SPEHAR, C. R. Quinoa: alternativa para a diversificação agrícola e alimentar. **Planaltina: Embrapa Cerrados**, 2007.

SPEHAR, C. R.; FRANCISCO, E. R.; PEREIRA, E. A. Yield stability of soybean cultivars in response to sowing date in the lower latitude Brazilian Savannah Highlands. **The Journal of Agricultural Science**, v. 153, n. 6, p. 1059-1068, 2014.

SPEHAR, C. R.; SANTOS, R. L. D. B. Quinoa BRS Piabiru: alternativa para diversificar os sistemas de produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 809-893, 2002.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWANESTRADA, K. R. F.; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18-46, 2011.

STRENSKE, A.; DE VASCONCELOS, E. S.; HERZOG, N. F. M.; MALAVASI, M. D. M. Germinação de sementes de quinoa com diferentes períodos de armazenamento. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 14, p. 286-290, 2015.

SUBEDI, S.; THAPA, B.; SHRESTHA, J. Root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) and its management: a review. **Journal of Agriculture and Natural Resources**, v. 3, n. 2, p. 21-31, 2020.

TEJO, D. P.; DOS SANTOS FERNANDES, C. H.; BURATTO, J. S. Fitonematoides e Estratégias Adotadas em seu Controle. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 24, n. 2, p. 126-130, 2020.

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.

VALLE, R. R. M.; SANTOS, K. C. B.; SILVA, J. V. O. Mecanismos de resistência em plantas contra ataque de patógenos: indução de resistência. **Cacau: cultivo, pesquisa e inovação. Ilhéus: Editus**, p. 85-150, 2018.

VILCACUNDO, R.; HERNÁNDEZ-LEDESMA, B. Nutritional and biological value of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). **Current Opinion in Food Science**, v. 14, p. 1-6, 2017.

WILSON, H.D. Quinoa and relatives (*Chenopodium* sect. *Chenopodium* subsect. *Cellulata*). **Economic Botany**, v. 44, p. 92–110, 1990.

YU, Y. T.; LIU, H. L.; ZHU, A. G.; ZHANG, G.; ZENG, L. B.; XUE, S. D. A review of root lesion nematode: identification and plant resistance. **Advances in Microbiology**, v. 2, p. 411-416, 2012.

ZÚNIGA, R. E. **Cultivo de quinua (*Chenopodium quinoa willd*) en la Región Cusco**. (2013).