UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON

BRUNA LUIZA DE OLIVEIRA

CARBOIDRATOS DO FUNGO *Pycnoporus sanguineus* PARA PROTEÇÃO DE TOMATEIRO CONTRA *Meloidogyne incognita*

BRUNA LUIZA DE OLIVEIRA

CARBOIDRATOS DO FUNGO *Pycnoporus sanguineus* PARA PROTEÇÃO DE TOMATEIRO CONTRA *Meloidogyne incognita*

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Dr. José Renato Stangarlin Coorientadora: Dra. Roberta Paulert





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 LUIZA DE OLIVEIRA

Carboidratos do fungo *Pycnoporus sanguineus* para proteção de tomateiro contra *Meloidogyne incognita*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Fitossanidade e Controle Alternativo, APROVADA pela seguinte banca examinadora:

Orientador - José Renato Stangarlin

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

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

Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS)

Marechal Cândido Rondon, 8 de julho de 2025

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

Oliveira, Bruna Luiza CARBOIDRATOS DO FUNGO Pycnoporus sanguineus PARA PROTEÇÃO DE TOMATEIRO CONTRA Meloidogyne incognita / Bruna Luiza Oliveira; orientador José Renato Stangarlin; coorientador Roberta Paulert. -- Marechal Cândido Rondon, 2025. 37 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2025.

1. FITOPATOLOGIA. 2. PROTEÇÃO DE PLANTAS. 3. DOENÇAS DE PLANTAS. I. Stangarlin, José Renato , orient. II. Paulert, Roberta , coorient. III. Título.

AGRADECIMENTOS

A Deus, minha eterna gratidão pela saúde, pelas bênçãos diárias e por me fortalecer e capacitar a transformar este sonho em realidade.

Aos meus pais, Edilson e Luzia, pelo amor imensurável e pelo apoio constante ao longo da minha vida. Por estarem sempre presentes, oferecendo auxílio e conforto nos momentos em que mais precisei.

Ao meu noivo Julio, por ser meu companheiro incansável, por acreditar em mim e por todo o apoio durante minha trajetória acadêmica.

Ao meu irmão Ruan, pelo incentivo, pela parceria e pela amizade sincera.

Ao professor Dr. José Renato Stangarlin, pela confiança depositada em mim, pela orientação dedicada, pelos ensinamentos valiosos, profissionalismo exemplar e pela amizade cultivada ao longo desse período.

Aos demais professores, pelos ensinamentos, conselhos e por despertarem em mim o desejo contínuo de aprender e crescer.

Aos amigos e colegas da graduação e pós-graduação, por compartilharem comigo momentos de amizade e por estarem sempre dispostos a oferecer apoio e escuta quando necessário.

A todos os amigos que encontrei nos Laboratórios de Fitopatologia, Nematologia e demais espaços de pesquisa, pelo suporte técnico e colaboração sempre que precisei.

Ao CNPq, pelo fomento concedido por meio da bolsa, que viabilizou a realização deste trabalho.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização deste projeto — mesmo que não mencionados aqui, são igualmente importantes e lembrados com carinho e gratidão.

RESUMO

OLIVEIRA, B. L. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, julho de 2025. Carboidratos do fungo *Pycnoporus sanguineus* para proteção de tomateiro contra *Meloidogyne incognita*. Orientador: Dr. José Renato Stangarlin.

O tomate (Solanum lycopersicum) tem como um de seus principais patógenos os nematoides, como Meloidogyne incognita, formador de galhas. Devido à dificuldade de seu manejo, como o reduzido número de genótipos resistentes e elevada toxicidade dos nematicidas químicos, é necessário buscar novos meios de controle, principalmente para atender a demanda mundial de métodos ambientalmente seguros. Pycnoporus sanguineus é um fungo basidiomiceto capaz de produzir moléculas eliciadoras com potencial para indução de resistência em tomateiros. O objetivo deste trabalho foi utilizar carboidratos estruturais (CE) extraídos do basidiocarpo de *P. sanguineus* para controle de *M. incognita* em tomateiro. Foram utilizadas as concentrações 0, 100, 200, 400 e 500 mg L⁻¹ de CE, em ensaios in vitro para verificar atividades nematicida e/ou nematostática, e in vivo para o controle do patógeno em tomateiro. In vivo foram avaliadas três formas de aplicação: imersão das raízes, pulverização na parte aérea e a combinação de ambas, todas realizadas três dias antes da inoculação do patógeno. Foram avaliados número de galhas e massas de ovos, viabilidade dos ovos, número de ovos e juvenis de segundo estádio (J2) no solo e na raiz, além do fator de reprodução. Houve pequeno efeito nematicida in vitro na concentração de 500 mg L⁻¹, causando 18% de incremento na mortalidade de J2. *In vivo*, nos ensaios com concentrações, houve redução de 50% no número de galhas, 67% em massas de ovos, 64% em nematoides no solo, 76% na viabilidade de ovos e 32% no fator de reprodução. O método de aplicação mais eficiente foi a combinação entre pulverização na parte aérea e imersão do sistema radicular, que proporcionou redução de 70% e 74% de nematoides na raiz e no solo, respectivamente, 62% na viabilidade de ovos e 68% no fator de reprodução. Estes resultados indicam o potencial de carboidratos estruturais de P. sanguineus para controle de M. incognita em tomateiro.

Palavras-chave: Nematoide, controle alternativo, basidiomiceto, indução de resistência.

ABSTRACT

OLIVEIRA, B. L. Western Paraná State University, July 2025. Carbohydrates from the fungus *Pycnoporus sanguineus* for the protection of tomato plants against *Meloidogyne incognita*. Advisor: Dr. José Renato Stangarlin.

Tomato (Solanum lycopersicum) is affected by several major pathogens, among which rootknot nematodes such as *Meloidogyne incognita* are particularly significant. Due to the difficulty in managing this pest—mainly because of the limited availability of resistant genotypes and the high toxicity of chemical nematicides—it is essential to seek new control strategies, especially those that meet the global demand for environmentally safe methods. Pycnoporus sanguineus is a basidiomycete fungus capable of producing elicitor molecules with potential to induce resistance in tomato plants. The objective of this study was to use structural carbohydrates (SC) extracted from the basidiocarp of *P. sanguineus* for the control of *M. incognita* in tomato plants. Concentrations of 0, 100, 200, 400, and 500 mg L⁻¹ of SC were used in in vitro assays to evaluate nematicidal and/or nematostatic activity, and in in vivo assays to assess pathogen control in tomato plants. In the in vivo experiments, three application methods were tested: root immersion, foliar spraying, and a combination of both, all applied three days before pathogen inoculation. The following parameters were evaluated: number of galls and egg masses, egg viability, number of eggs and second-stage juveniles (J2) in both soil and roots, and the reproduction factor. A slight in vitro nematicidal effect was observed at the concentration of 500 mg L⁻¹, resulting in an 18% increase in J2 mortality. In in vivo assays with different concentrations, a reduction of 50% in gall number, 67% in egg masses, 64% in nematodes in the soil, 76% in egg viability, and 32% in the reproduction factor was observed. The most effective application method was the combination of foliar spraying and root immersion, which led to a 70% and 74% reduction of nematodes in roots and soil, respectively, a 62% reduction in egg viability, and a 68% decrease in the reproduction factor. These results indicate the potential of structural carbohydrates from P. sanguineus for the control of M. incognita in tomato plants.

Keywords: Nematode, alternative control, basidiomycete, induction of resistance.

SUMÁRIO

R	RESUMO	6
A	ABSTRACT	7
S	UMÁRIO	8
1	. INTRODUÇÃO GERAL	9
2	. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
	2.1 TOMATEIRO E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA	11
	2.2 NEMATOIDE Meloidogyne incognita	11
	2.3 BASIDIOMICETOS COMO FONTE DE INDUTORES DE RESISTÊNCIA	12
	2.4 POTENCIAL DE <i>Pycnoporus sanguineus</i> NO CONTROLE DE NEMATOIDES	14
	2.5 POLISSACARÍDEOS PARA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS	15
	2.6 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS A PATÓGENOS	15
3	MATERIAL E MÉTODOS	17
	3.1 POPULAÇÕES DE M. incognita	17
	3.2 OBTENÇÃO DE CARBOIDRATOS ESTRUTURAIS (CE) DE P. sanguineus	17
	3.3 ENSAIOS DE ATIVIDADE NEMATICIDA E DE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA	17
	3.3.1 ENSAIO IN VITRO	18
	3.3.2 ENSAIO <i>IN VIVO</i> - CONCENTRAÇÕES	
	3.3.3 ENSAIO <i>IN VIVO</i> - MÉTODO DE APLICAÇÃO	19
	3.3.4 INOCULAÇÃO DE M. incognita	19
	3.4 ANÁLISES NEMATOLÓGICAS	19
	3.4.1 GALHAS E MASSAS DE OVOS NAS RAÍZES	19
	3.4.2. VIABILIDADE DA MASSA DE OVOS	20
	3.4.3. NÚMERO DE OVOS E J2 POR GRAMA DE RAIZ	20
	3.4.4. NÚMERO DE OVOS E J2 POR 100 cm³ DE SOLO	20
	3.4.5. FATOR DE REPRODUÇÃO	
	ANÁLISE ESTÁTISTICA	
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
6	CONCLUSÃO	31
D	PEFERÊNCIAS RIRLIOGRÁFICAS	33

1. INTRODUÇÃO GERAL

O tomateiro (*Solanum lycopersicum*) tem sua origem nas regiões andinas do Peru, Bolívia e Equador e seu fruto era chamado pelos indígenas mexicanos de tomati ou jitomate (DUSI et al., 1993). É uma hortaliça de grande importância socioeconômica e de excelente aceitação por parte do público consumidor (MADEIRA et al., 2019).

Possui importância nutricional, pois é fonte de vários nutrientes fundamentais à dieta balanceada como vitamina C, pró-vitamina A e antioxidantes (PEIXOTO et al., 2017), sendo amplamente utilizado para alimentação humana. Devido à importância nutricional e econômica que o tomate apresenta é necessário aumentar a atenção com o manejo fitossanitário, a fim de evitar perdas causadas por patógenos. Dentre os patógenos que causam danos no tomate o nematoide é de grande importância.

Os principais nematoides que causam danos ao tomateiro pertencem ao gênero *Meloidogyne*, conhecido popularmente como nematoide das galhas (PINHEIRO et al., 2014). Podem causar danos de intensidade variável nas plantas hospedeiras, que podem ser pequenas injúrias ou, até mesmo, a destruição de toda a planta. São endoparasitas polífagos devastadores que parasitam muitas plantas cultivadas em todo o mundo e representam uma séria ameaça à segurança alimentar global (SHUKLA et al., 2018).

Visto a dificuldade de manejo dos nematoides são necessários diferentes métodos de controle, a fim de realizar uma ação integrada para redução de populações desse patógeno. Dentre esses métodos está a indução de resistência, cujo agente indutor pode ser um produto químico, extratos de plantas, ou substâncias derivadas de microrganismos, como proteínas virais envelopadas, proteínas fúngicas ou bacterianas, lipoproteínas, lipopolissacarídeos e exopolissacarídeos (BLAINSKI et al., 2018).

Segundo Wille et al. (2019) o uso de basidiomicetos para o manejo de nematoides se mostra promissor, mas ainda são necessários estudos que demonstrem a eficiência dos basidiomicetos no controle desse patógeno. Dessa forma, as pesquisas devem ser voltadas para avaliar a eficiência desses basidiomicetos, verificando a melhor forma de aplicação e concentração necessária para o controle de nematoides.

Dentre os basidiomicetos com potencial para controle de nematoides está *Pycnoporus sanguineus*. Os corpos frutíferos (basidiocarpos) deste gênero de poliporos são laranja-avermelhados brilhantes, formados em troncos mortos (LEPP, 2020), apresentando píleo curto ou séssil, ou às vezes sobreposto, de consistência coriácea a cortiça (TÉLLEZ-TÉLLES et al.,

2016).

O extrato do fungo *P. sanguineus* pode ser utilizado como indutor de resistência e auxiliar nas medidas de manejo alternativo de fitonematoides (BARBOSA et al., 2021). Polissacarídeos derivados de basidiocarpos estão ganhando muito interesse de pesquisadores e indústrias recentemente devido às suas atividades antioxidantes, antitumorais, imunomoduladoras e outros benefícios à saúde (LEONG; YANG; CHANG, 2020).

Dessa forma, este trabalho objetivou verificar a eficácia de carboidratos extraídos de basidiocarpos do fungo *P. sanguineus* para controle de *M. incognita* em tomateiro, a fim de encontrar um método eficiente para o controle de nematoides, a partir de biomoléculas que causem menos impacto ao meio ambiente.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TOMATEIRO E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

O tomateiro (*Solanum lycopersicum*) pertence à família Solanaceae (CAMPAGNOL et al., 2017), uma planta de grande produção e consumo dos frutos tanto na forma *in natura* como processada nos mais variados derivados (CASTRO; BRANDÃO; MACEDO, 2008). A planta do tomateiro é herbácea, de caule flexível, podendo ser de hábito de crescimento indeterminado ou determinado (CAMPAGNOL et al., 2017).

Atualmente, existem cerca de 1.500 cultivares de tomate registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, das quais a maioria híbrida com alto potencial genético, com diferentes hábitos de crescimento (ZAMBOLIM; QUEZADO-DUVAL, 2022). Uma das cultivares, o tomate Gaúcho, tem crescimento indeterminado, requerendo maior intensidade em tratos culturais, especialmente pela fragilidade do fruto, em termos de manuseio (ZAMBOLIM; QUEZADO-DUVAL, 2022).

O tomateiro é uma importante cultura tanto no cenário nacional, quanto no internacional, sendo a segunda hortaliça mais produzida no mundo (PEIXOTO et al., 2017). Há grande interesse de produção de tomate pelos produtores rurais, visto seu valor agregado e as altas produções associadas a cultura, garantem renda para pequenos e grandes produtores.

Neste contexto, o manejo fitossanitário assume cada vez mais importância na obtenção de produtividades crescentes, devido à extensa gama de pragas, plantas daninhas e agentes patogênicos que afetam a cultura. Dentre estes, destacam-se os nematoides fitopatogênicos (SILVA, 2015).

2.2 NEMATOIDE Meloidogyne incognita

Meloidogyne é o principal gênero que causa danos em tomateiro no Brasil (PINHEIRO; PEREIRA; SUINAGA, 2014), destacando-se as espécies Meloidogyne incognita e Meloidogyne javanica (SILVA, 2015).

Meloidogyne incognita se destaca entre os endoparasitas polífagos mais nocivos, causando sérios danos às plantas e distribuído em todas as áreas agrícolas ao redor do mundo (SUBEDI; THAPA; SHRESTHA, 2020). Os sintomas ocorrem normalmente em reboleira, cujas plantas infestadas podem ser reconhecidas por uma condição peculiar apresentada nas raízes, que é a formação de galhas. Como sintoma reflexo na parte aérea, as plantas murcham mesmo que o solo esteja úmido, havendo ainda folhas amareladas e normalmente pouco

crescimento em relação a uma planta sadia (OLIVEIRA et al., 2018).

Os nematoides das galhas são os fitófagos que infestam a maioria das espécies de plantas econômicas mais importantes do mundo (ABOLUSORO et al., 2020). Estima-se que nematoides fitoparasitas causem perdas anuais globais de mais de US\$ 100 bilhões (DEGENKOLB; VILCINSKAS, 2016).

Cada fêmea de *Meloidogyne* deposita de 400 a 500 ovos em um único local no interior das raízes ou na superfície delas. Atraídos por exsudatos radiculares das plantas, os juvenis de segundo estádio (J2) penetram nas radicelas de plantas suscetíveis, geralmente pela parte apical, e atravessam o parênquima cortical para posicionar a região anterior do corpo na periferia do cilindro central (DINARDO-MIRANDA; MIRANDA, 2018).

O juvenil infeccioso do segundo estágio entra nas raízes do hospedeiro com a ajuda do estilete e se torna sedentário ao entrar no cilindro vascular (SUBEDI; THAPA; SHRESTHA, 2020). Ao introduzirem o estilete nas raízes das plantas hospedeiras, injetam toxinas que podem causar galhas ou lesões no sistema radicular. Como sintoma reflexo, pode ocorrer a deformação das células próximas ao cilindro central, as raízes perdem sua capacidade de absorção de água e nutrientes, resultando assim em plantas de pequeno porte, debilitadas e dependendo da porcentagem de infecção podem levar a morte da planta (SCHUTZ et al., 2019).

Após sofrerem três ecdises, os J2 atingem o estádio adulto. Os machos são filiformes e móveis e não parasitam as plantas, entretanto, as fêmeas obtêm formato de pera (OLIVEIRA et al., 2018), e se reproduzem por partenogênese mitótica obrigatória, quando em condições ambientais adequadas, caso contrário a reprodução pode ocorrer de forma sexuada (DINARDO-MIRANDA; MIRANDA, 2018).

Visto a dificuldade de manejo de nematoides e os grandes prejuízos causados a agricultura brasileira é necessário a busca por novos métodos de controle, métodos controle ecológicos e que não causem danos ao meio ambiente. Dentre as alternativas disponíveis está a indução de resistência. Esse método é muito eficaz, entretanto é necessário encontrar novas fontes de indutores de resistência.

2.3 BASIDIOMICETOS COMO FONTE DE INDUTORES DE RESISTÊNCIA

Basidiomicetos são fungos conhecidos por serem reservatórios de metabólitos bioativos. Atualmente, grande atenção tem sido dada à exploração de metabólitos de fungos como uma alternativa inovadora na proteção de cultivos (TSIVILEVA; SHATERNIKOV; EVSEEVA, 2024).

Alguns basidiomicetos são capazes de colonizar e matar os nematoides, funcionando como agentes de controle biológico. Segundo Wille et al. (2019), esses organismos não só atuam como inimigos naturais, capturando e parasitando nematoides, mas também são capazes de produzir uma variedade de substâncias antagônicas. Fungos saprofíticos degradam substratos orgânicos mortos, mas podem colonizar organismos vivos a fim de aumentar as chances de sobrevivência em condições de baixa disponibilidade de nutrientes (BALAES; TANASE, 2016). Entretanto, a importância desses fungos vai além do seu potencial de controle biológico.

Muitos dos macrofungos basidiomicetos produzem diversos compostos com propriedades nematicidas e inseticidas (THEMUHI et al., 2020). Extratos de fungos basidiomicetos podem representar uma estratégia de manejo promissora em relação às dificuldades existentes para controle de nematoides fitoparasitas (WILLE et al., 2019).

Há aproximadamente 40.000 espécies de basidiomicetos descritas (HE et al., 2022). Eles estão amplamente disponíveis na terra (GANESHPURKAR, RAI, JAIN, 2010). A ecologia química de fungos nematófagos ainda está longe de ser compreendida. São escassos os estudos para rastrear metabólitos em fungos nematófagos, ou metabólitos nematicidas em outros fungos, desde os estudos pioneiros de Stadler e colaboradores publicados na década de 1990 (DEGENKOLB; VILCINSKAS, 2016).

Vários basidiomicetos estão sendo testados para controle de fitoparasitas. O bioativo de *Neonothopanus nambi* foi usado para controlar biologicamente doenças de plantas, especialmente controle de nematoide das galhas (BUA-ART et al. 2010). O estudo *in planta* realizado em casa de vegetação demonstrou que o tratamento de imersão da raiz com *Ganoderma lucidum* reduziu o nível de infecção de *M. incognita* e promoveu o crescimento da planta de berinjela (FATIMA et al., 2022). Extratos de basidiomicetos *Pleurotus ostreatus*, *P. citrinopileatus*, *P. pulmonarius* e *Boletus* sp. foram usados em alface e reduziram a infestação de nematoide das galhas (WILLE et al., 2019).

Entre as fontes para novos indutores a partir de fungos basidiomicetos, está *Pycnoporus sanguineus*. Dentro do gênero existem três espécies, todas produzindo corpos frutíferos laranja brilhante, sendo *P. cinnabarinus* encontrado em todas as áreas temperadas do hemisfério norte, *P. sanguineus* nas áreas tropicais e subtropicais e *P. coccineus* nas áreas temperadas do hemisfério sul (LEPP, 2020).

2.4 POTENCIAL DE *Pycnoporus sanguineus* NO CONTROLE DE NEMATOIDES

Fungos do gênero *Pycnoporus*, membro dos basidiomicetos, são utilizados em todo o mundo (LI et al., 2020). Ribes et al. (2018) utilizaram o fungo *Pycnoporus sanguineus* em *Eucalyptus globulus* por um período de 90 dias, observando a degradação da lignina. Esse processo mostrou-se promissor para a indústria de celulose e papel, que demanda a remoção desses polímeros, visando sempre uma produção mais econômica e ambientalmente sustentável, demonstrando o uso versátil do fungo. Além disso, estudos conduzidos por Pérez-López et al. (2024) demonstraram o potencial fitossanitário dos extratos de *P. sanguineus*, que apresentaram taxas de inibição de 74,34% contra *Botrytis cinerea* e 47,14% contra *Fusarium oxysporum*.

De acordo com Ferraz e Santos (1995), os fungos que auxiliam no controle de populações de nematoides podem ser divididos em: predadores, endoparasitas, oportunistas e aqueles que produzem metabólitos tóxicos aos nematoides. *P. sanguineus* possui potencial para indução de resistência contra nematoides. O extrato aquoso do basidiocarpo de *P. sanguineus* controlou *Meloidogyne* em tomateiro, por indução de resistência e sem interferir no crescimento da planta (BARBOSA et al., 2021). Essa indução de resistência em plantas se dá através de metabolitos secundários produzidos pelos fungos.

O fungo *P. sanguineus*, amplamente distribuído na natureza, costuma ser encontrado em troncos de árvores em decomposição (LEPP, 2020), sendo produzidos anualmente (LEE; CHAO; LU, 2012), o que colabora para seu uso em pesquisas, visto a ampla quantidade de fungos dispersos pelas matas.

Pycnoporus tem um grande potencial para produção de pigmentos naturais, especialmente a cinabarina, que juntamente com outras substâncias produzidas pelo fungo possui atividades biológicas antivirais, antioxidantes, antifúngicas, antibacterianas e antiparasitárias (PINEDA-INSUASTI et al., 2017).

Fungos nematóforos fornecem um reservatório promissor, porém amplamente inexplorado, de novos nematicidas, que podem ser usados para o biocontrole de nematoides fitoparasitas (DEGENKOLB; VILCINSKAS, 2016). Os resultados utilizando *P. sanguineus* são promissores, no entanto, há muitos patossistemas a serem investigados a fim de se verificar a capacidade de indução de resistência causada por este fungo, tais como os patossistemas com fitonematoides (BRITO et al., 2025). Entre esses, se encontra o estudo dos efeitos de *P. sanguineus* para controle de *M. incognita*.

Entre as diversas moléculas produzidas por basidiomicetos, os polissacarídeos de P.

sanguineus podem ser promissores para o controle de nematoides fitoparasitas.

2.5 POLISSACARÍDEOS PARA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS

O uso de polissacarídeos tem se mostrado promissor para controle de patógenos. Polissacarídeos são longas cadeias complexas de carboidratos compostas de açúcares neutros e/ou monômeros de ácido urônico mantidos juntos por ligações glicosídicas (LEONG; YANG; CHANG, 2020).

Um interesse crescente é dedicado aos carboidratos por seu papel na imunidade das plantas. Alguns deles são indutores de defesas vegetais, enquanto outros atuam como moléculas sinalizadoras de maneira semelhante aos fitormônios (TROUVELOT et al., 2014).

Pesquisas realizadas por Aguiar et al. (2018) demonstraram que polissacarídeos extraídos de basidiocarpos de *Pleurotus ostreatus* e *Lentinula edodes* foram eficazes no controle de *Xanthomonas gardneri*, uma bactéria que causa manchas em tomateiros. O estudo revelou uma redução de 50% na produção bacteriana e na severidade das manchas em cotilédones, folíolos e folhas de tomateiros. Esse resultado sugere o potencial desses polissacarídeos como uma alternativa natural para o manejo de doenças em plantas.

Em estudos conduzidos por Tsivileva, Shaternikov e Evseeva (2024), plântulas de trigo (*Triticum aestivum*) foram tratadas com polissacarídeos extracelulares (EPSs). Esses EPSs foram isolados de culturas submersas de vinte linhagens de basidiomicetos, abrangendo 13 espécies e oito gêneros. A maioria das preparações de EPS melhorou a produção de biomassa e os parâmetros morfológicos do trigo. Além disso, a aplicação de EPS aumentou as atividades de enzimas antioxidantes e diminuiu o dano oxidativo aos lipídios.

O polissacarídeo de *P. sanguineus* já foi utilizado, inclusive na medicina humana. Estudos de LI et al. (2020) exploraram seu potencial anti-inflamatório em colite murina, demonstrando melhora da doença através da redução do índice de atividade da doença, prolongamento do cólon e diminuição do lipopolissacarídeo sérico.

É inegável que os carboidratos desempenham importante papel na imunidade das plantas. No entanto, sua real importância nas interações planta-patógeno ainda permanece parcialmente desconhecida devido à alta complexidade dos mecanismos envolvidos (TROUVELOT et al., 2014).

2.6 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS A PATÓGENOS

As plantas reagem a estresses bióticos e abióticos por meio de diferentes respostas de defesa (OLIVEIRA; VARANDA; FÉLIX, 2016). As plantas possuem diferentes mecanismos estruturais e bioquímicos que podem contribuir para a resistência das mesmas a fitopatógenos (STANGARLIN et al., 2011). Esses mecanismos podem ser pré ou pós-formados em relação ao momento de início do processo infecioso. No caso da indução de resistência, são os mecanismos pós-formados os ativados pelo tratamento indutor.

Os mecanismos estruturais pós-formados são barreiras mecânicas que consistem no aumento da produção e deposição de substâncias capazes de conter a invasão de patógenos, como papilas, halos, lignificação, camada de cortiça, camada de abscisão, tilose e experidina. Barreiras químicas pós-formadas consistem no aumento da concentração ou atividade de proteínas ou enzimas de defesa e na síntese de compostos antimicrobianos como fenóis, fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese, espécies reativas de oxigênio e terpenos, entre outros (OLIVEIRA; VARANDA; FÉLIX, 2016; PASCHOLATI; DALIO, 2018).

A estratégia de resistência induzida consiste em estimular o sistema de defesa da planta com eliciadores, moléculas naturais que imitam o ataque de um patógeno ou um estado de perigo, ou por organismos vivos (BURKETOVA et al., 2015). Segundo Pascholati e Dalio (2018), a resistência pode ser induzida pela ativação de mecanismos latentes de resistência em uma planta através de tratamentos com agentes externos, que podem ser bióticos ou abióticos. O tratamento com indutores de resistência ou microrganismos benéficos proporciona resistência duradoura para plantas a uma ampla gama de patógenos (BURKETOVA et al., 2015).

Brito et al. (2025) demonstraram que proteínas isoladas de basidiocarpos de *P. sanguineus* são capazes de induzir atividade da peroxidase em tomateiros, especialmente na interação com *M. javanica*, o que sugere participação ativa na lignificação e possível impedimento da formação de sítios de alimentação pelos nematoides.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 POPULAÇÕES DE M. incognita

As populações de *M. incognita* foram obtidas de raízes de tomateiro mantidos em casade-vegetação do Laboratório de Nematologia da Unioeste, em Marechal Cândido Rondon. A população foi identificada com base na configuração da região perineal (HARTMAN; SASSER, 1985).

Para extração de ovos e nematoides das raízes foi utilizada a metodologia descrita em Freitas et al. (2007). Para tanto as raízes foram lavadas e trituradas em liquidificador em solução de 0,5% de hipoclorito de sódio, durante 30 segundos em rotação baixa. Em seguida o triturado foi passado por peneira de 48 mesh sobreposta em peneira de 500 mesh, sendo o material recolhido nesta peneira, quantificado e em seguida realizado a contagem em câmara de Peters.

3.2 OBTENÇÃO DE CARBOIDRATOS ESTRUTURAIS (CE) DE P. sanguineus

Inicialmente foram coletados basidiocarpos de *P. sanguineus* em matas da região oeste do Paraná. Após a coleta eles foram secos em ambiente natural ensolarado e, posteriormente limpos, retirando estruturas indesejáveis que estavam aderidas ao basidiocarpo, como restos de cascas vegetais.

Para o preparo da concentração com carboidratos de *P. sanguineus*, os basidiocarpos foram secos em estufa a 40 °C por 2 h e moídos em liquidificador. Foram utilizados 70 g de basidiocarpos, os quais foram moídos e adicionados a 2,1 L de água destilada e mantidos a 70 °C por 8 h. Foi realizada uma pré-filtragem utilizando um funil revestido com papel filtro., em seguida foi realizada a filtragem à vácuo em membrana de 0,45 μm de poro, o volume da solução foi reduzido em estufa a 55 °C. Em seguida, a esse volume reduzido foram adicionadas três partes (volume/volume) de etanol absoluto P.A., e a mistura mantida a -20 °C por 48 h. Após descarte do sobrenadante, o resíduo foi rotoevaporado a 50 °C e 60 rpm para remoção do etanol residual. A fração final resultante foi seca em estufa a 55 °C, originando assim os carboidratos estruturais (CE) de *P. sanguineus*, os quais foram armazenados em freezer a -20 °C até momento de uso.

Os carboidratos de P. sanguineus foram diluídos para as concentrações 0, 100, 200, 400 e 500 mg L^{-1} , utilizando-se água destilada.

3.3 ENSAIOS DE ATIVIDADE NEMATICIDA E DE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA

3.3.1 ENSAIO IN VITRO

O ensaio *in vitro* foi conduzido no Laboratório de Nematologia da Unioeste, campus Marechal Cândido Rondon, sob delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos (concentrações de CEs: 0, 100, 200, 400 e 500 mg L⁻¹ preparadas com água destilada) e cinco repetições. Foram utilizados juvenis de segundo estádio (J2) de *M. incognita* extraídos de raízes de tomateiro, sendo 100 J2 para cada parcela experimental, constituída de um frasco plástico de 50 mL contendo 10 mL de cada concentração. Os frascos foram incubados no escuro a 25 °C. Na primeira contagem, no tempo 24 h, foi determinada a porcentagem de nematoides móveis e imóveis, para determinar a motilidade. Na segunda contagem, no tempo 48 h, adicionou-se 600 μLde hidróxido de sódio 1% para estimular a movimentação dos nematoides, seguido de contagem em microscópio ótico, para determinar a mortalidade (nematoides que continuavam imóveis após a primeira contagem).

3.3.2 ENSAIO IN VIVO - CONCENTRAÇÕES

O ensaio foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado, sendo utilizado seis tratamentos e quatro repetições, com um vaso contendo uma planta para cada parcela experimental.

Sementes de tomateiro Gaúcho, uma variedade com hábito de crescimento indeterminado e suscetível a nematoides, foram semeadas em bandejas de 128 células, contendo uma mistura autoclavada de solo, areia e húmus na proporção de 2:1:1. Após 30 dias, as mudas foram transplantadas para vasos de 2 L, utilizando o mesmo substrato.

Catorze dias após o transplante, as mudas receberam diferentes concentrações do CE: 0 (controle), 100, 200, 400 e 500 mg L⁻¹. A aplicação foi realizada via foliar, utilizando um aspersor para aplicar uniformemente 5 mL de cada extrato na parte aérea das plantas, tomandose o cuidado para não atingir o solo. Quatro dias após a aplicação do CE, foram inoculados 2.000 ovos + J2 de *M. incognita* por vaso, conforme item 3.3.4.

Os tomateiros foram cultivados por 60 dias em uma estufa coberta por plástico de polietileno, e protegida lateralmente com sombrite 70%. Para evitar a dispersão de nematoides e garantir a integridade do experimento, a irrigação foi controlada, fornecendo água diariamente em quantidade reduzida para evitar o escorrimento. Adicionalmente, foram instaladas armadilhas adesivas para prevenir ataques de insetos, e o tutoramento das plantas foi realizado conforme a necessidade para garantir seu desenvolvimento adequado. Após os 60 dias, foram feitas as análises nematológicas (item 3.4).

3.3.3 ENSAIO IN VIVO - MÉTODO DE APLICAÇÃO

Após a identificação da concentração ideal do composto na etapa anterior, a segunda fase do trabalho objetivou determinar o melhor método de aplicação. Este ensaio foi conduzido com seis repetições e quatro tratamentos sendo: T1: Testemunha (controle); T2: Aplicação na parte aérea; T3: Aplicação na raiz; T4: Aplicação em parte aérea e raiz. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, sendo cada parcela composta por um vaso contendo uma planta.

No T1, as plantas foram tratadas por aspersão apenas com água destilada. Para o T2, foram aplicados 5 mL do CE (na concentração determinada na etapa anterior) nas folhas do tomateiro utilizando um aspersor, tomando-se o cuidado para não atingir o solo. No T3, as mudas foram removidas da bandeja e tiveram seu sistema radicular imerso no CE por 5 segundos. O T4 consistiu na combinação das aplicações realizadas nos tratamentos T2 e T3.

Para garantir a uniformidade e a reprodutibilidade do experimento, o preparo das mudas e do substrato seguiu exatamente o mesmo procedimento detalhado no item 3.3.2. Da mesma forma, o local de cultivo e todos os tratos culturais aplicados às plantas foram idênticos aos descritos anteriormente.

Três dias após a aplicação dos tratamentos, os tomateiros foram inoculados com *M. incognita*, seguindo as mesmas condições descritas no tópico 3.3.4.

3.3.4 INOCULAÇÃO DE M. incognita

Em todos os ensaios *in vivo* a inoculação foi feita com 2.000 ovos + J2 de *M. incognita* por vaso, extraídos conforme tópico 3.1. Foram feitas três pequenas aberturas de 1 cm de diâmetro e 3 cm de profundidade no solo dos vasos, próximos ao caule do tomateiro, e em seguida nestas aberturas foi depositada a suspensão de inóculo utilizando-se pipeta.

3.4 ANÁLISES NEMATOLÓGICAS

3.4.1 GALHAS E MASSAS DE OVOS NAS RAÍZES

Para verificar a existência de massa de ovos nas raízes, estas foram coradas com Floxina B (15 mg L⁻¹) e, após 20 min, foram lavadas em água corrente para tirar o excesso de corante (TAYLOR; SASSER, 1978). O número de galhas e massa de ovos foi contado com auxílio de lupa de mesa.

3.4.2. VIABILIDADE DA MASSA DE OVOS

Após a realização da contagem de número de galhas e massas de ovos coradas, foi avaliada a viabilidade desses ovos. Para isso, as massas foram retiradas e depositadas em poços contendo 250 μL de água destilada, em placas de ELISA. Estas foram vedadas com filme plástico, mantendo-as no escuro, a 25 °C, por 15 dias. A viabilidade foi determinada pela avaliação do número de juvenis eclodidos (KOSMANN et al., 2017).

3.4.3. NÚMERO DE OVOS E J2 POR GRAMA DE RAIZ

Para extração de ovos e nematoides das raízes foram utilizadas as metodologias de Freitas et al. (2007) e Coolen e D'Herd (1972) descritas anteriormente no tópico 3.1. A quantificação foi feita em câmera de Peters ao microscópio óptico.

3.4.4. NÚMERO DE OVOS E J2 POR 100 cm³ DE SOLO

O método flotação centrífuga em solução de sacarose foi empregado para extração de ovos e nematoides do solo (JENKIKS, 1964). Uma amostra de 100 cm³ de solo de cada vaso foi suspensa em água para desfazer os agregados de solo. Em seguida essa suspensão de solo e água foi passado pela peneira de 48 mesh sobreposta em peneira de 500 mesh.

A suspensão contendo os ovos e nematoides retidos na peneira de 500 mesh foi colocada nos tubos da centrífuga, e centrifugados por 5 min a 1.750 rpm (raio do rotor de 15 cm). O sobrenadante foi descartado e o resíduo ressuspenso em solução de sacarose (454 g de açúcar refinado em água o suficiente para completar 1 L). Os tubos foram levados para centrífuga novamente e centrifugados por 1 min após atingir a velocidade de 1.750 rpm na mesma centrífuga.

Após a centrifugação, o sobrenadante foi vertido em peneira de 500 mesh, e os nematoides lavados com água corrente, para retirada da sacarose. Os nematoides foram recolhidos, com auxílio de uma pisseta, em um béquer. O número de ovos e J2 foi contado em lâmina de Peters em microscópio ótico.

Com os valores de ovos e de J2 por raiz e solo foi calculado o fator de reprodução (FR) (OOSTENBRINK, 1966).

3.4.5. FATOR DE REPRODUÇÃO

Com os valores de ovos e de J2 por raiz e solo foi calculado o fator de reprodução (FR).

Para o cálculo é realizado a divisão entre a população final e a população inicial (2000 ovos+juvenis), é amplamente utilizado em nematologia como indicador de aumento e diminuição de população. Nesse contexto, o aumento da população representa valores superiores a 1, enquanto a redução da população representa valores superiores a 1 (SEINHORST, 1967).

4 ANÁLISE ESTÁTISTICA

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e análise de regressão para os efeitos concentrações *in vitro* e *in vivo*. Para comparar as médias do ensaio de determinação da forma de aplicação, foi aplicado o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para essas análises foi utilizado o programa Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2015).

Os dados do experimento *in vitro* foram transformados por meio da função arcsen(\sqrt{x}), recomendada para dados expressos em porcentagens ou proporções.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Ensaio in vitro

Ao submeter os dados à análise de regressão, houve efeito significativo para a mortalidade, ou seja, efeito nematicida, representado por uma equação quadrática (Figura 1). Para a motilidade (efeito nematostático) não houve significância.

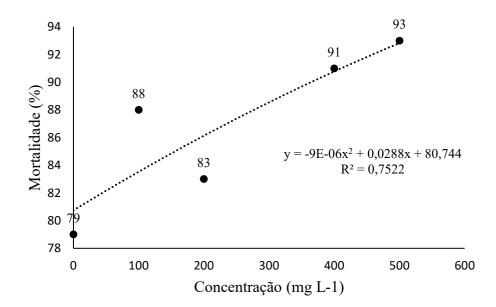


Figura 1. Mortalidade *in vitro* de *Meloidogyne incognita* em concentrações de carboidratos de *Pycnoporus sanguineus*.

Os resultados demonstram o potencial nematicida de carboidratos de *P. sanguineus*, especialmente na maior concentração de 500 mg L⁻¹, com aumento de mortalidade de 18% comparado ao controle. Ou seja, o contato direto do CE de *Pycnoporus*, causa a morte de nematoides.

Resultados semelhantes foram observados por Bua-art et al. (2010), que avaliaram compostos bioativos extraídos do cogumelo luminescente *Neonothopanus nambi* contra *M. incognita*, que na concentração de 500 mg L⁻¹ resultou em 100% de mortalidade de J2 em apenas 1 minuto. Além disso, as concentrações de 100 e 50 mg L⁻¹ causaram mortalidade total em 30 horas e 48 horas, respectivamente. Esses dados reforçam o potencial de fungos basidiomicetos como fontes de compostos nematicidas naturais para o controle de fitonematoides, corroborando os efeitos observados no presente estudo com *P. sanguineus*.

5.2. Ensaio in vivo - concentrações

Para o número de galhas (Figura 2), houve efeito significativo das concentrações, representado por equação de segundo grau. Por esta equação, a concentração calculada de 326 mg L⁻¹ proporcionaria redução de 56% na formação de galhas. Para as concentrações testadas, a de 400 mg L⁻¹ apresentou o maior efeito em relação as demais, com redução de 50,45% em comparação com a testemunha. Isso indica que os carboidratos de *P. sanguineus* podem ter afetado a penetração ou a formação de células nutridoras nas raízes, reduzindo a formação de galhas.

A redução na formação de galhas também foi observada por Bua-Art et al. (2010) com extrato do basidiomiceto *N. nambi* para controle de *M. incognita*, onde os tratamentos 100 e 500 mg L⁻¹ impediram completamente a formação de galhas em tomateiros, enquanto concentrações mais baixas (10 e 50 mg L⁻¹) ainda reduziram significativamente o número de galhas em comparação ao controle.

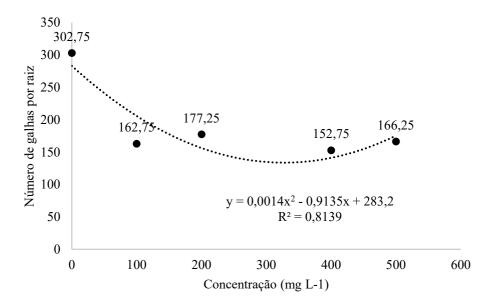


Figura 2. Número de galhas de *Meloidogyne incognita* em tomateiro tratado com concentrações de carboidratos de *Pycnoporus sanguineus*. O tratamento ocorreu por aspersão na parte aérea das mudas, quatro dias antes da inoculação do nematoide. A avaliação de galhas por raiz realizadas 60 dias após o transplantio das mudas.

Para massa de ovos (Figura 3), houve efeito significativo das concentrações, representado por equação de primeiro grau. Por esta equação, a concentração calculada de 722 mg L⁻¹ proporcionaria redução de 100% na formação de massas de ovos. A maior redução foi

de 67,46% para a concentração 500 mg L⁻¹ em relação ao controle. Esses resultados são relevantes, pois sugerem uma possível limitação na reprodução dos nematoides, a qual pode estar associada à redução no número de galhas formadas.

Em estudos conduzidos por Talaska, Carmo e Stangarlin (2025), o fungo *Pycnoporus sanguineus* demonstrou eficácia na redução de massas de ovos de *M. incognita* em tomateiro, principalmente na concentração de 750 mg do pó de basidiocarpo por vaso, que reduziu 41% em comparação com a testemunha.

Resultados semelhantes foram observados por Heydari, Pourjam e Goltapeh (2006), que, embora tenham utilizado filtrados fúngicos de *Pleurotus ostreatus*, *P. sajor-caju* e *P. florida* contra *Meloidogyne javanica*, também verificaram redução no número de massas de ovos em testes in vitro, indicando potencial nematicida de metabólitos fúngicos.

A diminuição da massa de ovos na raiz é uma estratégia eficaz para reduzir a quantidade de inóculo para a próxima safra, o que é fundamental para o controle de nematoides. Essa abordagem contribui significativamente para a sustentabilidade e a produtividade agrícola ao quebrar o ciclo de vida dos patógenos e minimizar sua proliferação no solo.

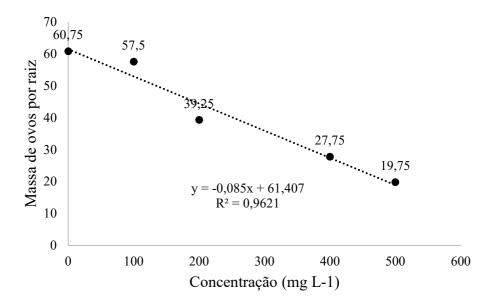


Figura 3. Número de massas de ovos de *Meloidogyne incognita* em tomateiro tratado com concentrações de carboidratos de *Pycnoporus sanguineus*. O tratamento ocorreu por aspersão na parte aérea das mudas, quatro dias antes da inoculação do nematoide. A avaliação de massa de ovos por raiz realizadas 60 dias após o transplantio das mudas.

Para a população de nematoides no solo (Figura 4), também houve efeito significativo

representado por equação de segundo grau. O maior efeito ocorreu na concentração 500 mg L⁻¹, a qual apresentou redução de 64,39% quando comparado à testemunha. Esse efeito pode estar relacionado a redução de nematoides e seu ciclo reprodutivo, devido a menos galhas e massas de ovos, reduzindo assim o número de nematoides presentes no solo.

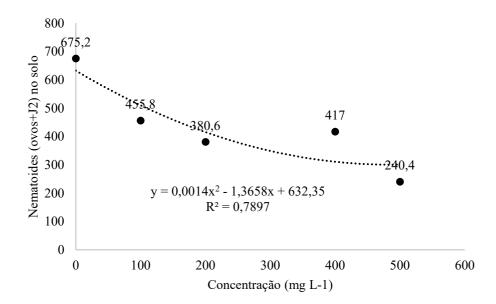


Figura 4. Número de ovos e juvenis de segundo estádio (J2) de *Meloidogyne incognita* produzidos em solo com tomateiro tratado com concentrações de carboidratos de *Pycnoporus sanguineus*. O tratamento ocorreu por aspersão na parte aérea das mudas, quatro dias antes da inoculação do nematoide. A avaliação de nematoides no solo foi realizada 60 dias após o transplantio das mudas.

A análise de viabilidade de ovos produzidos nas galhas indicou efeito do tratamento com *P. sanguineus* (Figura 5). O valor calculado da concentração que resulta em menor viabilidade foi de 306 mg L⁻¹, com redução de 61%. Pontualmente, a concentração 200 mg L⁻¹ foi o mais eficaz na redução do número de nematoides eclodidos, com redução de 76,35%.

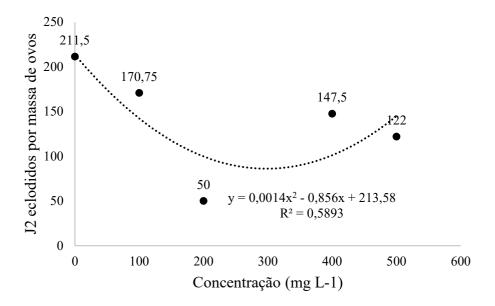


Figura 5. Viabilidade de ovos de *Meloidogyne incognita* produzidos em tomateiro tratado com concentrações de carboidratos de *Pycnoporus sanguineus*. O tratamento ocorreu por aspersão na parte aérea das mudas, quatro dias antes da inoculação do nematoide. A viabilidade dos ovos foi avaliada 15 dias após a incubação em placas ELISA.

O fator de reprodução (Figura 6) foi determinado para avaliar a dinâmica populacional dos nematoides ao longo do experimento. Esse índice é obtido pela razão entre o número final de nematoides e a quantidade inicialmente inoculada. O valor calculado da concentração que resulta no menor fator de reprodução foi 225 mg L⁻¹, com redução de apenas 20%. Pontualmente, para 200 mg L⁻¹, houve a maior redução, de 32%.

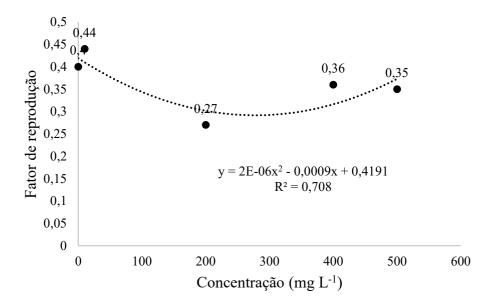


Figura 6. Fator de reprodução de *Meloidogyne incognita* em tomateiro tratado com concentrações de carboidratos de *Pycnoporus sanguineus*. O tratamento ocorreu por aspersão na parte aérea das mudas, quatro dias antes da inoculação do nematoide. A avaliação de fator de reprodução foi realizada 60 dias após o transplantio das mudas.

A redução no fator de reprodução foi acompanhada por menores números de galhas, de massas de ovos e viabilidade de ovos, indicando que os carboidratos de *P. sanguineus* aplicados na parte aérea, ativam mecanismos de defesa na raiz que podem atuar de maneira integrada sobre diferentes fases do ciclo do nematoide.

Para Wille et al. (2019), os basidiomicetos ou seus metabólitos podem interferir significativamente nos nematoides fitoparasitas. Eles são capazes de prejudicar a motilidade e a capacidade de penetração das formas ativas nas plantas, afetar a atração dos juvenis pelo hospedeiro e, inclusive, influenciar a eclosão dos J2 ou causar a morte desses fitoparasitas.

Para a variável nematoides na raiz não houve efeito significativo do tratamento com concentrações de carboidratos de *P. sanguineus* (dados não mostrados).

5.3. Ensaio in vivo – método de aplicação

No ensaio de métodos de aplicação de carboidratos de *P. sanguineus*, não houve efeito significativo para números de galhas e de massas de ovos produzidas (dados não mostrados). No entanto, outros trabalhos utilizando basidiomicetos para controle de nematoides indicam efeito sobre a formação de galhas e massas de ovos. Bakr e Mahdy (2022), utilizado substrato exaurido do cultivo de cogumelos comestíveis para controle de *Meloidogyne*, verificaram

redução de 96% no número de galhas quando adicionaram 100 g de substrato por vaso, seguido por 91% de redução com 50 g por vaso. Além disso, em trabalho desenvolvido por Talaska, Carmo e Stangarlin (2025), o uso de pó de basidiocarpo encapsulado de *P. sanguineus* reduziu a formação de galhas de *M. incognita* em tomateiro, com redução de 11% e 14% nas concentrações de 500 e 750 mg do pó por cova de transplantio de mudas. Semelhantemente, o extrato do basidiocarpo de *Ganoderma lucidum* reduziu a formação de massas de ovos, a viabilidade dos ovos e causou maior taxa de mortalidade de *M. incognita* (AKSHAYA et al., 2021; THEMUHI et al., 2020).

Para nematoides na raiz (Figura 7), houve diferença significativa entre o controle e o tratamento que combinou a aplicação dos carboidratos na parte aérea e na raiz. A superioridade desse tratamento pode ser atribuída a um duplo mecanismo de ação: a aplicação na parte aérea provavelmente induziu resistência na planta, enquanto a aplicação na raiz teve um efeito nematicida direto, impedindo a entrada dos nematoides.

O uso do basidiomiceto *Ganoderma lucidum* também apresentou resultados promissores no estudo de Fátima et al. (2022), que observaram elevada mortalidade de juvenis de *Meloidogyne incognita* em berinjela, quando expostos a diferentes concentrações de seus filtrados de cultura.

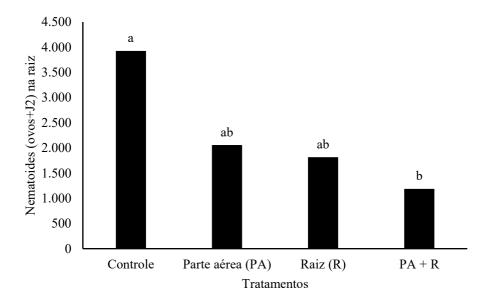


Figura 7. Número de ovos e juvenis de segundo estádio (J2) de *Meloidogyne incognita* em raiz de tomateiro tratado por diferentes métodos com carboidratos de *Pycnoporus sanguineus*. O tratamento ocorreu três dias antes da inoculação do nematoide. C.V.: 7,58%. A avaliação de nematoides na raiz foi realizada 60 dias após o transplantio das mudas.

A contagem de nematoides no solo também revelou diferença significativa entre o controle e o tratamento que combinou a aplicação dos carboidratos na parte aérea e na raiz (Figura 8). A menor quantidade de nematoides no solo pode ser atribuída à redução na reprodução desse patógeno promovida pelo tratamento, diminuindo assim a população presente nos vasos. Além disso, o efeito nematicida do produto provavelmente contribuiu para esse declínio.

A diminuição da população de nematoides no solo é um achado crucial, pois indica uma potencial menor taxa de infecção por esses patógenos em ciclos de cultivo futuros e reinfecções no atual ciclo. Isso pode representar um benefício significativo para a sanidade e produtividade das culturas.

Apesar de utilizarem *Pleurotus ostreatus* e atuarem sobre *Meloidogyne javanica*, Abbasi, Torkashvan e Rahanandeh (2014) também observaram redução significativa na massa de ovos por grama de solo em solos tratados com compostos de cogumelo ostra, evidenciando a eficácia de metabólitos fúngicos no manejo de nematoides.

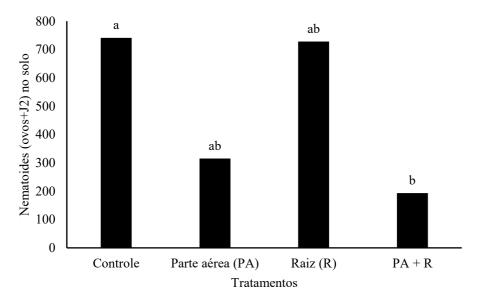


Figura 8. Número de ovos e juvenis de segundo estádio (J2) de *Meloidogyne incognita* produzidos em solo com tomateiro tratado por diferentes métodos com carboidratos de *Pycnoporus sanguineus*. O tratamento ocorreu três dias antes da inoculação do nematoide. C.V.: 9,46%. A avaliação de nematoides no solo foi realizada 60 dias após o transplantio das mudas.

A análise da viabilidade de ovos demonstrou que todos os tratamentos com a aplicação de carboidratos de *P. sanguineus* reduziram a quantidade de J2 eclodidos por massa de ovos

(Figura 9). A baixa viabilidade dos ovos pode resultar em redução significativa do inóculo do nematoide. Apesar da formação de galhas e massas de ovos não ter apresentado diferença significativa, a inviabilidade impede a eclosão dos J2, comprometendo a continuidade do ciclo de vida do patógeno e, consequentemente, diminuindo seu potencial de infestação em ciclos subsequentes.

Apesar de terem utilizado *Pleurotus ostreatus* e alface como planta hospedeira, Wille et al. (2019) também observaram forte ação nematicida contra *Meloidogyne incognita*, com redução superior a 70% no fator de reprodução, reforçando o potencial de basidiomicetos, como o *P. sanguineus* testado neste estudo, no controle biológico do patógeno.

Além disso, trabalhos feitos com o basidiomiceto *Neolentinus ponderosus* mostraram atividade nematicida em testes *in vitro* e *in vivo* (próximo a 97% e 50%, respectivamente), possivelmente ocasionado por metabólitos secundários produzidos por este basidiomiceto (MONTAÑEZ-PALMA; TÉLLES-TÉLLES; AGUILAR-MARCELINO, 2021).

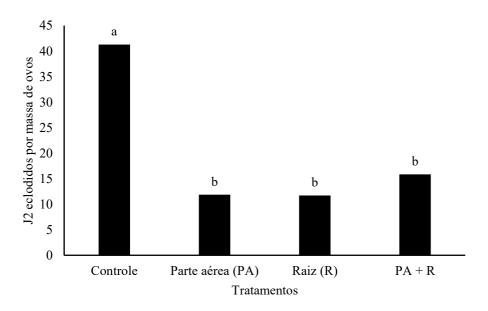
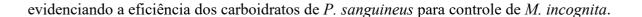


Figura 9. Viabilidade de ovos de *Meloidogyne incognita* produzidos em tomateiro tratado por diferentes métodos com carboidratos de *Pycnoporus sanguineus*. O tratamento ocorreu três dias antes da inoculação do nematoide. C.V.: 49,12%. A avaliação J2 eclodidos por massa de ovos foi realizada após 15 dias em incubação em placas ELISA.

No cálculo de fator de reprodução foi possível verificar que os tratamentos por imersão de raiz e por aspersão da parte aérea + imersão de raiz reduziram o fator de reprodução, para valores abaixo de 1 (Figura 10), isso significa que o tratamento reduziu o inóculo inicial,



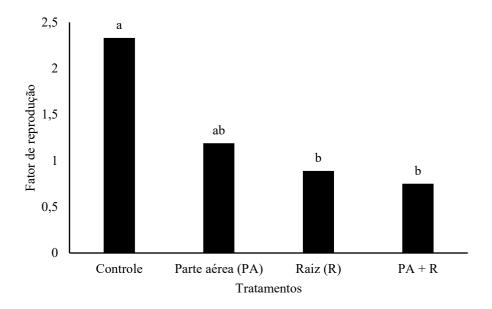


Figura 10. Fator de reprodução de *Meloidogyne incognita* em tomateiro tratado por diferentes métodos com carboidratos de *Pycnoporus sanguineus*. O tratamento ocorreu três dias antes da inoculação do nematoide. C.V.: 37,49%. A avaliação de fator de reprodução foi realizada 60 dias após o transplantio das mudas.

Os resultados deste trabalho indicam o grande potencial de *P. sanguineus* para controle de nematoides, com efeitos tanto diretos sobre o patógeno, quanto indiretos por indução de resistência. Outros autores já realizaram trabalhos com *P. sanguineus* e obtiveram resultados de potencial no controle de nematoides do gênero *Meloidogyne* (BARBOSA et al., 2021), entretanto, ainda não existem trabalhos utilizando exclusivamente carboidratos extraídos de basidiocarpos de *P. sanguineus*.

Embora o presente estudo tenha avaliado apenas variáveis morfofisiológicas, Brito et al. (2025) demonstraram que proteínas do extrato de *P. sanguineus* aumentaram a atividade de peroxidase em tomateiros tratados e inoculados com *M. javanica*, indicando que a indução de resistência pode envolver rotas bioquímicas específicas. Assim, sugere-se a realização de análises histológicas e bioquímicas adicionais para elucidar quais mecanismos foram ativados após o tratamento com carboidratos de *P. sanguineus*.

6 CONCLUSÃO

Os resultados evidenciam o potencial dos carboidratos extraídos de basidiocarpos de P.

sanguineus como agentes nematicidas e indutores de resistência para controle de *M. incognita* em tomateiro. A concentração de 500 mg L⁻¹ aplicada por imersão de raiz no momento do transplante das mudas, seguida de aspersão na parte aérea, foi a mais eficaz no controle.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBASI, N.; TORKASHVAN, A.M.; RAHANANDEH, H. Evaluation of mushroom compost for the bio control root-knot nematode. **International Journal of Biosciences**, v.5, p.147-153, 2014.
- ABOLUSORO, S.A.; ADEKIYA, A.O.; AREMU, C.; IGE, S.; IZUOGU, N.B.; ABOLUSORO, P.F.; ERERE, A.; OBANIYI, S. Control of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in tomato (*Solanum lycopersicum*) crop using siam weed (*Chromolaena odorata*) compost manure. **Journal of Horticultural Research**, v. 28, p. 87-92, 2020.
- AGUIAR, T.; LUIZ, C.; ROCHA NETO, A.C.; PIERO, R.M.D. Residual polysaccharides from fungi reduce the bacterial spot in tomato plants. **Plant Protection**, v.77, p.299-313, 2018.
- AKSHAYA, S.B.; KRISHNAMOORTHY, A.S.; NAKKEERAN, S.; POORNIMA, K.; SIVAKUMAR, U. Inhibitory potential of ethyl acetate extract from mushrooms against root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v.9, p.528-534, 2021.
- BAKR, R.; MAHDY, M. Spent mushroom as eco-friendly management strategy of root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. infecting eggplant. **Egyptian Journal of Crop Protection**, v.17, p.15-26, 2022.
- BALAES, T.; TĂNASE, C. Basidiomycetes as potential biocontrol agents against nematodes. Romanian Biotechnological Letters, v.21, p.1-10, 2016.
- BARBOSA, J.A.; RAMOS, D.D.; RINALDI, L.K.; STANGARLIN, J.R.; FIORENTIN, F. *Pycnoporus sanguineus* extract in the control of *Meloidogyne javanica* in tomato. **Ensaios e Ciência**, v.25, p.783-787, 2021.
- BLAINSKI, J.M.L.; ROCHA NETO, A.C.; SCHIMIDT, E.C.; VOLTOLINI, J.A.; ROSSI, M.J.; DI PIERO, R.M. Exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* induce biochemical and physiological alterations in tomato plant against bacterial spot. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.102, p.4741-4753, 2018.
- BRITO, O.D.C.; SCHONS, B.C.; CECATTO JUNIOR, R.; DALEVEDOVE, D.B.; FUJIMOTO, J.Y.H.; STANGARLIN, J.R. Proteins of *Pycnoporus sanguineus* have nematicide activity and induce resistance to *Meloidogyne spp*. in Micro-Tom tomato plants. **Tropical Plant Pathology**, v.50, n.43, p.1-11, 2025.
- BUA-ART, S.; SAKSIRIRAT, W.; KANOKMEDHAKUL, S; HIRANSALEE, A.; LEKPHROM, R. Extraction of bioactive compounds from Luminescent mushroom (*Neonothopanus nambi*) and its effect on root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). **KKU Research Journal**, v.15, p. 1-13, 2010.
- BURKETOVA, L.; TRDA, L.; OTT, P.G.; VALENTOVA, O. Bio-based resistance inducers

for sustainable plant protection against pathogens. **Biotechnology Advances**, v.33, p. 994-1004, 2015.

CAMPAGNOL, R.; MELLO, S.; MELO, P.C.T.; MINAMI, K. Cultivo de minitomates em ambiente protegido. Curitiba: SENAR PR, 2017, 57p.

CASTRO, I.M.; BRANDÃO, E.S.; MACEDO, J.R. Aspectos funcionais e nutricionais do tomate: uso de agrotóxicos na tomaticultura de São José de Ubá (RJ). Rio de Janeiro, RJ: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2008. 32p. (Documento 95)

DEGENKOLB, T.; VILCINSKAS, A. Metabolites from nematophagous fungi and nematicidal natural products from fungi as an alternative for biological control. Part I: metabolites from nematophagous ascomycetes. **Springer Nature**, v.100, p.3799-3812, 2015.

DINARDO-MIRANDA, L.L.; MIRANDA, I.D. Nematoides. Centro de Cana – IAC, p.12-16, 2018.

DUSI, A.N.; LOPES, C.A.; OLIVEIRA, C.A.S.; MOREIRA, H.M.; MIRANDA, J.E.C.; CHARCHAR, J.M.; SILVA, J.L.O.; MAGALHÃES, J.R.; BRANCO, M.C.; REIS, N.V.B.; MAKISHIMA, N.; FONTES, R.R.; PEREIRA, W.; HORINO, Y. A cultura do tomateiro: (para mesa). **Coleção Plantar**, v.5, p.1-88, 1993.

FATIMA, S.; KHAN, F.; ASIF, M.; ALOTAIBI, S.S.; ISLAM, K.; SHARIQ, M.; KHAN, A.; IKRAM, M.; AHMAD, F.; KHAN, T.A. Root-knot disease suppression in eggplant based on three growth ages of *Ganoderma lucidum*. **Microorganisms**, v.10, p.1068, 2022.

FERRAZ, S.; SANTOS, M.A. Controle biológico de fitonematoides pelo uso de fungos. **Revisão Anual de Patologia de Planta**, v.3, p.283-314, 1995.

FERREIRA, D.F. Sisvar versão 5.6. UFLA. 2015.

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

GANESHPURKAR, A.; RAI, G.; JAIN, A. P. Medicinal mushrooms: Towards a new horizon. **Pharmacognosy Review**, v.4, p.1-9, 2010.

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

HE, M.; DENCHEV, T. T.; ZHAO, R.; BEGEROW, D. Species diversity of Basidiomycota. **Fungal Diversity**, 2022.

HEYDARI, R.; POURJAM, E.; GOLTAPEH, E.M. Antagonistic effect of some species of *Pleurotus* on the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica in vitro*. **Plant Pathology Journal**, v.5, p.173-177, 2006.

JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v.48, p.692, 1964.

KOSMANN, C.R.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; ANDRIOLI, K.K.; FREITAS, L.C.N.; KAISER, D.K.; LORENZETTI, E.; MEINERZ, C.C.; MATTEI, D.; FIORENTIN-PETERS, F.; HELING, A.L.; CARVALHO, J.C.; BARBOSA, J.A. Extract of *Persea americana* (Mill.) used for the control of *Meloidogyne incognita* in tomato plant. **African Journal of Agricultural Research**, v.12, p.1037-1044, 2017.

LEE, M-H.; CHAO, C-H.; LU, M-K. Effect of carbohydrate-based media on the biomass, polysaccharides molecular weight distribution and sugar composition from *Pycnoporus sanguineus*. **Biomass and Bioenergy**, v.47, p.37-43, 2012.

LEONG, YK.; YANG, F.C; CHANG, J.S. Extraction of polysaccharides from edible mushrooms: Emerging technologies and recent advances. **Elsevier**, p.1-16, 2020.

LEPP, H. Cosmopolitan and pan-tropical species. Australian National Botanic Gardens, Fungi Web Site. https://www.anbg. gov.au/fungi/aboriginal.html. 2020. Acesso em: 29 jul. 2025.

LI, M.; LUO, T.; HUANG, Y.; SU, J.; LI, D.; CHEN, X.; ZHANG, Y.; HUANG, L.; LI, S.; JIAO, C.; LI, W.; XIE, Y.; LI, W. Polysaccharide from *Pycnoporus sanguineus* ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis via helper T cells repertoire modulation and autophagy suppression. **Phytotherapy Research**, v.34, p.2649-2664, 2020.

MADEIRA, N.R.; LIMA, C.E.P.; MELO, R.A.C.; FONTENELLE, M.R.; SILVA, J.; MICHEREFF FILHO, M.; GUEDES, I.M.R. Cultivo do tomateiro em sistema de plantio direto de hortaliças (SPDH). Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2019. 10p. (Circular técnica 168).

MONTAÑEZ-PALMA, L.F.; TÉLLES-TÉLLES, M.; AGUILAR-MARCELINO, L. Nematicidal activity of a hydroalcoholic extract of the edible mushroom *Neolentinus ponderosus* on L3 larvae of *Haemonchus contortus*. **Acta Parasitologica**, v.66, p.969-976, 2021.

OLIVEIRA, C.M.G.; ROSA, J.M.O.; GIORIA, R.; BRAGA, K.R.B; Nematoides. In: BRANDÃO FILHO, J.U.T.; FREITAS, P.S.L.; BERIAN, L.O.S.; GOTO, R.. comps. **Hortaliças-fruto**. Maringá: EDUEM, 2018, p. 315-338. ISBN: 978-65-86383-01-0.

OLIVEIRA, M.D.M.; VARANDA, C.M.R.; FÉLIX, M.R.F. Induced resistance during the interaction pathogen x plant and the use of resistance inducers. **Phytochemistry Letters**, v.15, p.152-158, 2016.

OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. **Wageningen**, v.66, p. 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. (Eds.). **Manual de fitopatologia**: Princípios e conceitos. 5°. ed. Ouro fino: Agronômica

Ceres, 2018. p.424-452.

PEIXOTO, J.V.M.; MORAES, E.R.; PEIXOTO, J.L.M.; NASCIMENTO, A.R.; NEVES, J.G. Tomaticultura: aspectos morfológicos e propriedades físico-químicas do fruto. **Revista Científica Rural: Centro de ciências exatas e ambientas**, v.19, n,1, 2017.

PÉREZ-LÓPEZ, R. I.; ROMERO-ARENAS, O.; LEZAMA, C. P.; LÓPEZ, A. R.; RIVERA, A.; RAMÍREZ, L. C. Comparison of Three Biological Control Models of *Pycnoporus sanguineus* on Phytopathogenic Fungi. **Applied Sciences**, v. 14, p. 1-10, 2024.

PINEDA-INSUASTI, J.A.; GÓMEZ-ANDRADE, W.E.; DUARTE-TRUJILLO, A.S.; SOTO-ARROYAVE, C.P.; PINEDA-SOTO, C.A.; FIERRO-RAMOS, F.J.; MORA-MUÑOZ, E.S.; ÁLVAREZ-RAMOS, S.E. Producción de *Pycnoporus* spp. y sus metabolitos secundarios: Una revisión. **CIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar**, v.51, p.60-69, 2017.

PINHEIRO, J.B.; BOITEUX, L.S.; PEREIRA, R.B.; ALMEIDA, M.R.A.; CARNEIRO, R. M.D.G. **Identificação de espécies de** *Meloidogyne* **em tomateiro no Brasil.** Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2014. 16p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 102).

PINHEIRO, J.B.; PEREIRA, R.B.; SUINAGA, F.A. Manejo de nematoides na cultura do tomate. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2014. 12p. (Circular técnica 132).

RIBES, D. D.; ZANATTA, P.; GALLIO, E.; LOURENÇON, T.; BELTRAME, R.; PEDRAZZI, C.; GATTO, D. A. Utilização do fungo *Pycnoporus sanguineus* para biopolpação de madeira. **Revista matéria**, v. 23, n. 04, p. 1-10, 2018.

SEINHORST, JW. Relationships between population increase and population density in plant parasitic nematodes. **Nematologica** v. 13, p. 429-442. 1967.

SHUKLA, N; YADAV, R; KAUR, P; RASMUSSEN, S.; GOEL, S.; AGARWAL, M.; JAGANNATH, A.; GUPTA, R.; KUMAR, A. Transcriptome analysis of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*)-infected tomato (*Solanum lycopersicum*) roots reveals complex gene expression profiles and metabolic networks of both host and nematode during susceptible and resistance responses. **National Library of Medicine**, v.19, p.615-633, 2018.

SILVA, J. O. *Meloidogyne incognita* na cultura do tomate: levantamento e manejo com produtos biológicos. 2015. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Goiás, 2015.

SOUZA, V.H.M.; ROMA-ALMEIDA, R.C.C.; MELO, T.A.; REZENDE, D.C.; INOMOTO, M.M.; PASCHOLATI, S.F. Fitonematoides: Controle biológico e indução de resistência. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.23, 2015.

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

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

31, 2020.

TALASKA, L.A; CARMO, R.M.; STANGARLIN, J.R. *Pycnoporus sanguineus* encapsulado no controle de *Meloidogyne incognit*a em tomateiro. **Revista Observatorio de la Economia Latinoamericana**, v.23, p.1-13, 2025.

TASCA, G.P.; BRITO, O.D.C.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J. Control of *Meloidogyne incognita* in soybean plants with *Pycnoporus sanguineus* extract. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.21, p.258-262, 2022.

TÉLLEZ-TÉLLEZ, M.; VILLEGAS, E.; RODRÍGUEZ, A.; ACOSTA-URDAPILLETA, M. L.; DÍAZ-GODÍNEZ, G. Mycosphere Essay 11: Fungi of *Pycnoporus* genus: morphological and molecular identification, wordwide distribution and biotechnological potential. **Mycosphere**, v.7, p.1500-1525, 2016.

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

TROUVELOT, S.; HÉLOIR, M. C.; POINSSOT, B.; GAUTHIER, A.; PARIS, F.; GUILLIER, C.; COMBIER, M.; TRDÁ, L.; DAIRE, X.; ADRIAN, M. Carbohydrates in plant immunity and plant protection: roles and potential application as foliar sprays. **Frontiers in Plant Science**, v.5, p.1-8, 2014.

TSIVILEVA, O.; SHATERNIKOV, A.; EVSEEVA, N. Basidiomycetes Polysaccharides Regulate Growth and Antioxidant Defense System in Wheat. **International Journal of Molecular Sciences**, v.25, p.1-13, 2024.

WILLE, C.N.; GOMES, C.B.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J.S. Potential of aqueous extracts of basidiomycetes to control root-knot nematodes on lettuce. **Horticultura Brasileira**, v.37, p.54-59, 2019.

ZAMBOLIM, L.; QUEZADO-DUVAL, A.M. Produção integrada do tomateiro tutorado. **CEAD UFV**, v.1, p.15-23, 2022.