

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

JULIANA KATH

Mecanismos de controle de *Pratylenchus brachyurus* por *Trichoderma* spp. em soja e potencial para uso com indutores de resistência

Maringá  
2017

JULIANA KATH

Mecanismos de controle de *Pratylenchus brachyurus* por *Trichoderma* spp. em soja e potencial para uso com indutores de resistência

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

Área de concentração: Proteção de Plantas

Orientador: Prof.a. Dra. Cláudia Regina Dias Arieira.

Maringá  
2017

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

K19m Kath, Juliana  
Mecanismos de controle de *Pratylenchus brachyurus*  
por *Trichoderma* spp. em soja e potencial para uso  
com indutores de resistência / Juliana Kath. --  
Maringá, 2017.  
vii, 46 f. : figs., tabs.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Cláudia Regina Dias  
Arieira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de  
Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento  
de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em  
Agronomia, 2017.

1. Controle biológico. 2. Indução de Resistência.  
3. Nematóide das lesões. 4. Soja - Controle  
biológico. I. Arieira, Cláudia Regina Dias, orient.  
II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de  
Ciências Agrárias, Departamento de Agronomia.  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDD 23.ed. 632.96

GVS-003764

# FOLHA DE APROVAÇÃO

JULIANA KATH

Mecanismos de controle de *Pratylenchus brachyurus* por *Trichoderma* spp. em soja e potencial para uso com indutores de resistência

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

## COMISSÃO JULGADORA

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

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carine Rezende Cardoso  
Grupo Farroupilha

Prof.<sup>o</sup>. Dr. Giovani de Oliveira Arieira  
Universidade Estadual de Maringá

Aprovada em: 21 de fevereiro de 2017.

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

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me dado a vida e em todos os meus dias da minha vida me deu forças e ânimo para a concretização de mais essa etapa.

À toda minha família, pelo apoio e paciência em todos os momentos, especialmente meus pais, Hildo e Vera, pelo ensinamento, pelas lições de vida e pelo exemplo de humildade e honestidade, e à minha irmã Larissa, pelo carinho e suporte nos momentos de crise.

Ao meu noivo, Luiz Fernando Pialarissi Sinzker, pela compreensão pelo tempo em que eu estive ausente, pelo carinho e incentivo.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Claudia Regina Dias Arieira, pelo enorme incentivo pela pesquisa, pelas orientações, apoio, dedicação e empenho, e aos demais professores da Pós-Graduação, que com muita atenção sempre estiveram à disposição.

Ao Grupo Farroupilha, pelo apoio e disponibilização dos materiais para realização dos trabalhos.

A todos os colegas do laboratório que me auxiliaram para a realização deste trabalho, em especial aos amigos Juliana Aparecida Homiak, Julio Cesar Antunes, Ana Paula de Azevedo e Camila Rocco.

À Érica, pela atenção e cuidado comigo em todos os momentos na secretaria

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

À Faculdade Integrado de Campo Mourão, por conceder espaço para realização de parte do experimento, em especial ao Prof. Dr. Lucas Silvério.

À Universidade Estadual de Maringá pela oportunidade de iniciar o mestrado e conseguir esse título.

## Mecanismos de controle de *Pratylenchus brachyurus* por *Trichoderma* spp. em soja e potencial para uso com indutores de resistência

### RESUMO

Considerado um dos fitonematoides de maior importância para a cultura da soja, *Pratylenchus brachyurus* é causador de lesões radiculares e seu controle apresenta limitações, especialmente por ser polífago dificultando a rotação de culturas e medidas isoladas não surtem o efeito desejado. Assim, são necessárias medidas alternativas para integrar no manejo do nematoide na cultura da soja. Com isso, objetivou-se avaliar a eficiência do controle biológico através do tratamento de sementes com isolados de *Trichoderma* spp., associado ou não a indutores de resistência, no controle de *P. brachyurus* na cultura da soja. Para isso, no primeiro experimento, realizou-se uma seleção, a fim de verificar os melhores isolados do fungo, em casa de vegetação, usando sementes de soja previamente tratadas com os isolados, sendo este método de aplicação do fungo, padronizado para todos os experimentos *in vivo*. Neste ensaio, os isolados GF332 e GF417 não apresentaram efeito satisfatório e foram descartados nos demais experimentos. O segundo experimento objetivou avaliar a associação de isolados de *Trichoderma* spp. (GF422, GF425, GF427 e GF362) com indutores de resistência (Acibenzolar-S-metil, Ecolife<sup>®</sup> e AgroMos<sup>®</sup>) aplicados via pulverização foliar após 15 e 22 dias da emergência. Ainda *in vivo*, estudou-se a eficiência do fungo em reduzir a penetração do nematoide na soja e, *in vitro*, a mortalidade de *P. brachyurus* exposto a filtrados fúngicos. Por último, fez-se a análise bioquímica da atividade das enzimas catalase, PAL e proteínas totais. Os isolados GF422, GF425 e GF247 reduziram o número de nematoides g<sup>-1</sup> de raiz e aumentaram a massa seca da parte aérea, enquanto os isolados GF425 e GF427 aumentaram também a massa fresca da raiz. O indutor Ecolife<sup>®</sup> apresentou controle eficiente do nematoide quando associado com os isolados GF362, GF427 e GF422, e o AgroMos<sup>®</sup> promoveu melhor controle em associação com GF362 e GF427. A penetração do nematoide foi reduzida por todos os isolados de *Trichoderma* spp. e os mesmos foram eficientes em causar mortalidade de *P. brachyurus* *in vitro*. A catalase foi a enzima de maior atividade em plantas tratadas com *Trichoderma* spp. em avaliações realizadas após 48 horas de emergência da planta. Assim, pode-se concluir que isolados do fungo *Trichoderma* apresentam potencial para o controle de *P. brachyurus*, possivelmente por ação direta sobre o nematoide.

**Palavras-chave:** Controle biológico. Indução de Resistência. Nematoide das lesões.

## Mechanisms of control of *Pratylenchus brachyurus* by *Trichoderma* spp. in soybean and potential for use with resistance inducers

### ABSTRACT

*Pratylenchus brachyurus* is considered one of the most important plant-parasitic nematode in soybean crop. It is the causer of root lesion and there are limited resources for its control, especially because isolated actions do not work properly. Therefore, it is necessary alternative actions in order to control the nematode in soybean crop. Moreover, it was aimed to evaluate the efficiency of biological control through seed treatment with isolated forms of *Trichoderma* spp, associated or not to resistance inducers, as a control of *P. brachyurus* in soybean crop. During the first experiment, a selection was performed, in order to verify the best fungus' isolated forms at greenhouse, using soybean previously treated with isolated forms. In this method, the fungus application was standardized to all *in vivo* experiments. The isolated forms GF332 and GF417 did not produced significant effects and were rejected. The second experiment aimed to evaluate the association of isolated forms of *Trichoderma* spp (GF422, GF425, GF427 and GF362) with resistance inducers (Acibenzolar-S-metil, Ecolife<sup>®</sup> and AgroMos<sup>®</sup>), used as leaf spray 15-22 days after the seed emergence. It was also studied the fungus efficacy to reduce the nematode penetration at the soybean *in vivo*, and the mortality of *P. brachyurus* exposed to fungus infiltration *in vitro*. Ultimately, the biochemical activity of the catalase enzymes, PAL and total proteins were analyzed. The isolated forms GF422, GF425 and GF247 reduced the number of root nematode g<sup>-1</sup> and increased the dry mass of aerial parts, whereas the GF425 and GF427 forms also increased root's fresh weight. The inducer Ecolife<sup>®</sup> performed efficiently when associated to the GF362, GF427 and GF422 forms and the AgroMos<sup>®</sup> promoted better control when associated to GF362 and GF427. The nematode penetration was reduced by all *Trichoderma* spp isolated forms and the same were efficient to cause *P. brachyurus* death *in vitro*. The catalase was the enzyme with the highest activity in plants treated with *Trichoderma* spp. in evaluations performed after 48 hours of seed emergence. Therefore, it was possible to conclude that isolated forms of *Trichoderma* fungus have potential controlling *P. brachyurus* probably due to direct action over the nematode.

**Key-words:** Biological Control. Resistance Inducers. Lesion Nematode.





## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Número de nematoides total, nematoide por grama de raiz, massa seca de parte aérea seca e massa de fresca de raiz de soja inoculada com *Pratylenchus brachyurus* e tratada com estirpes de *Trichoderma* spp.....31
- Tabela 2 Número de nematoides g<sup>-1</sup> de raiz de soja submetida a diferentes tratamentos com isolados de *Trichoderma* spp. e indutores de resistência.....32
- Tabela 3 Massa fresca e seca de parte aérea (PA) e massa fresca de raiz de soja submetida a diferentes tratamentos com isolados de *Trichoderma* spp. e indutores de resistência.....32
- Tabela 4 Mortalidade de *Pratylenchus brachyurus* expostos a filtrados fúngicos obtidos de isolados de *Trichoderma* spp., 24 e 48 horas após incubação.....33
- Tabela 5 Penetração de *Pratylenchus brachyurus* em raízes de soja tratadas com diferentes isolados de *Trichoderma* spp., sob tratamento de sementes e inoculadas com 400 nematoides, aos 5, 10, 15 e 20 dias após a inoculação (DAI).....34

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Absorbância ( $\text{mg g}^{-1}$ ) de proteína total da parte aérea (A) e raiz (B) de soja, após 24, 48 e 72 horas de emergência, submetida a diferentes tratamentos com isolados de *Trichoderma* spp.....35
- Figura 2 Atividade da fenilalanina amônia liase (PAL em  $\mu\text{mol}$  de ácido trans-cimânico por  $\text{mg}$  de proteína por minuto) na parte aérea (A) e raiz (B) de soja, após 24, 48 e 72 horas de emergência, submetida a diferentes tratamentos com isolados de *Trichoderma* spp.....36
- Figura 3 Atividade catalase ( $\mu\text{mol}$  de peróxido de hidrogênio por  $\text{mg}$  de proteína por minuto) na parte aérea (A) e raiz (B) de soja, após 24, 48 e 72 horas de emergência, submetida a diferentes tratamentos com isolados de *Trichoderma* spp.....37

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO .....	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
Cultura da Soja no Brasil.....	3
Nematoídes na soja .....	3
Estratégias para o manejo de <i>Pratylenchus brachyurus</i> .....	6
<i>Trichoderma</i> como agente de controle biológico .....	10
Modo de ação do fungo <i>Trichoderma</i> sobre nematoídes .....	11
REFERÊNCIAS.....	14
CAPÍTULO 1.....	21
Potencial do fungo <i>Trichoderma</i> spp., associado ou não a indutores de resistência, para o manejo de <i>Pratylenchus brachyurus</i> em soja .....	21
MATERIAL E MÉTODOS .....	26
a) Seleção de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. com potencial para o controle de <i>P. brachyurus</i> na soja .....	26
b) Associação entre <i>Trichoderma</i> spp. e indutores de resistência para o controle de <i>P. brachyurus</i> .....	27
c) Penetração de <i>P. brachyurus</i> em soja tratada com <i>Trichoderma</i> spp.....	28
d) Filtrados fúngicos de <i>Trichoderma</i> spp. na mortalidade de <i>P. brachyurus</i> .....	28
e) Produção de enzimas de resistência em soja tratada com isolados de <i>Trichoderma</i> spp. 29	
f) Análise estatística dos dados.....	30
RESULTADOS.....	30
DISCUSSÃO .....	38
CONCLUSÕES .....	41

## INTRODUÇÃO

A cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) foi introduzida no Brasil em 1882 e levada, em 1914, para o do Rio Grande do Sul, com a finalidade de produção de forragem (FERRAZ, 2002). O país destaca-se como um dos grandes produtores mundiais do grão, e na safra 2015/2016 a cultura ocupou uma área de 33,17 milhões de hectares, o que totalizou uma produção de 95,63 milhões de toneladas. A produtividade média da soja brasileira foi de 2.882 kg por hectare (EMBRAPA, 2016).

A ocorrência de pragas e doenças é considerada como um dos diversos fatores limitantes para a obtenção de acréscimos na produtividade nacional de soja, que poderia ser superior a 3.200 kg ha<sup>-1</sup>, caso fossem manejadas corretamente (ALMEIDA, 2001).

Neste contexto, a presença de nematoides fitoparasitas durante o cultivo pode levar a perdas significativas se não manejado corretamente. Os fitonematoides são organismos vermiformes, geralmente microscópicos, parasitas obrigatórios que possuem forma tubular alongada adequada para sua movimentação, geralmente por ondulação serpentiforme (NOE, 2010). Alguns fitonematoides possuem características morfológicas distintas, podendo possuir formas maiores e arredondadas, o que os torna incapazes de locomoção na fase adulta, como *Meloidogyne* spp., *Globodera* spp., *Heterodera* spp., e outros (FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

No Brasil, a cultura da soja é prejudicada pela ação nociva de fitonematoides, incluindo o nematoide das galhas, pertencentes ao gênero *Meloidogyne* spp., sendo que os mais importantes são *M. incognita* e *M. javanica* (DIAS, 2010), cujas raízes atacadas apresentam sintoma característico de formação de galhas. Importante para a cultura da soja, o nematoide de cisto, *Heterodera glycines* está presente em grande parte do país, causando danos à cultura, sendo seu principal sintoma a redução do porte e clorose das plantas, conhecido como nanismo amarelo da soja. Considerado uns dos problemas em várias culturas, o nematoide reniforme, *Rotylenchulus reniformis*, vem apresentando aumento contínuo nas lavouras, sendo sua principal característica a desuniformidade nas áreas onde está presente e, além disto, tem causado danos e perdas de produção (FERRAZ et al., 2011). O nematoide das lesões radiculares, *Pratylenchus brachyurus*, encontra-se disseminado em vários estados e tem ampla gama de hospedeiros, com destaque para a suscetibilidade da soja. Tal espécie encontra-se presente em várias regiões agrícolas de cultivo da soja, principalmente no centro-

oeste do Brasil, em áreas em sistema de plantio direto (RIBEIRO, 2008). Devido às condições favoráveis de solo, *P. brachyurus* chega a causar perdas de até 30% na cultura da soja (GOULART, 2009).

*P. brachyurus* tem ação direta sobre o sistema radicular das plantas, causando redução no tamanho e número de raízes, ocasionadas pela ação de locomoção do nematoides no interior da raiz, levam ao nanismo, enfezamento, clorose na parte aérea e baixa produtividade, sendo que a principal característica visível são as lesões necróticas que surgem relacionadas à ação indireta de microrganismos oportunistas (FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

Devido à dificuldade de controle dos nematoides, faz-se necessário o uso do manejo integrado, o qual consiste na união de várias estratégias combinadas, como medidas de exclusão, utilização de plantas antagonistas, controle químico, adubação verde, cultivares resistentes, rotação de culturas, pousio e controle biológico (BARKER; KOENNING, 1998).

Dentro do manejo integrado, o controle biológico apresenta uma série de vantagens, pois, comparado ao químico, reduz a contaminação e o desequilíbrio no meio ambiente, com menor deposição de resíduos no solo (SOARES, 2006). Diversos microrganismos são encontrados no ambiente com a capacidade de atuar como agente de biocontrole, dentre os quais se destacam as espécies de *Trichoderma*, *Paecilomyces*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Streptomyces*, entre outros (MELO; AZEVEDO, 1998).

O fungo antagonista *Trichoderma* spp. vem sendo pesquisado no controle de fungos fitopatogênicos e fitonematoides (ETHUR et al., 2001; SHARON et al., 2007; DIAS, 2011). Por tratar-se de um micoparasita necrotrófico, apresenta grande eficácia no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos, como *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Pythium aphanidermatum*, entre outros (ETHUR et al., 2001; MAFIA et al., 2003; ETHUR 2006; PATRÍCIO et al., 2007). O uso de *Trichoderma* spp. para o controle de nematoides das galhas foi comprovado em diferentes trabalhos (NASERINASAB et al., 2011; MASCARIN et al., 2012; JINDAPUNNAPAT et al., 2013; AL-HAZMI; TARIQ JAVEED, 2016), contudo estudos para o controle de *P. brachyurus* são escassos.

Desta forma, o trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de isolados do fungo *Trichoderma* spp., associado ou não a indutores de resistência, no manejo de *P. brachyurus* na cultura da soja.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### Cultura da Soja no Brasil

Originária das regiões central e norte da China, a soja foi introduzida no Brasil em 1882, no estado da Bahia, e levada por imigrantes japoneses para São Paulo e Rio Grande do Sul em 1914, com o objetivo de ser usada na produção de forragem (FERRAZ, 2006). A partir daí o seu uso se expandiu e o país tem sido o segundo maior produtor e processador mundial de soja em grãos do mundo e o segundo exportador mundial de soja, de farelo e de óleo, o que garante ao país um papel de extremo potencial para a produção dessa commodity (BATISTA, 2011).

O cultivo de soja se dá em sistemas de produção em larga escala e compreende uma vasta área de produção no Brasil. De acordo com a CONAB (2016), no levantamento de safra 2015/16, foram plantadas 33,17 milhões de hectares de soja, sendo que esse valor representa 49% de área cultivável de grãos no país, a produção estimada para safra 2016/17 é de 102,4 milhões de toneladas. Tais valores apontam a soja como cultura de extrema importância para a economia nacional, sendo elemento essencial na fabricação de rações animais e com uso crescente na alimentação humana. Porém, muitos fatores, abióticos e bióticos, podem limitar a produção de tal cultura, entre eles as pragas e doenças são causadoras de grandes perdas.

O potencial da produção de soja mundial tem sido ameaçado pelo ataque de diferentes organismos patogênicos e os fitonematoides estão entre os principais percalços ao acréscimo da produtividade agrícola no mundo. Conforme Franchini et al. (2014), estima-se perda média de produtividade de soja em até 21% na presença do nematoide das lesões radiculares no Mato Grosso.

### Nematoides na soja

Nematoides são organismos que constituem um grupo abundante de animais multicelulares presentes em todo o mundo e que desempenham diversas funções. Os que parasitam plantas são chamados fitonematoides e, são não segmentados e, em geral, cilíndricos e alongados, sendo que seu comprimento varia de 0,3 a 3,0 mm e o diâmetro de 15 a 50 µm (FERRAZ et al., 2012), com capacidade de utilizar os vegetais de diversas formas para completar o ciclo de vida.

A importância econômica dos nematoides nas culturas agrícolas, varia com a condição do ambiente, manejo cultural e a população inicial no solo. Brand et al. (2010) estimaram que as perdas de rendimento global podem compreender em até 20% em algumas

culturas e em termos monetários, as perdas mundiais certamente ultrapassam US \$ 100 bilhões anualmente.

São inúmeras as espécies de nematoides relatadas associadas à cultura da soja, sendo as mais importantes no Brasil os nematoides das galhas, *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood e *M. incognita* (Kofoid e White) Chitwood, o nematoide de cisto da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe, o nematoide das lesões radiculares, *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev e S. Stekhoven, e o nematoide reniforme, *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira (DIAS et al., 2010).

O gênero *Meloidogyne* (Goeldi) compreende um grupo de parasitas obrigatórios sedentários, causadores de galhas no sistema radicular dos vegetais, e entre os mais importantes estão *M. incognita*, *M. javanica* *M. arenaria* (Neal) Chitwood e *M. hapla* Chitwood (FERRAZ; MONTEIRO, 2011), sendo os dois primeiros os mais importantes para a cultura da soja (DIAS et al., 2010).

O ciclo de vida desse grupo inicia com a eclosão dos juvenis no solo, que migram em busca de raízes hospedeiras, penetrando nas radículas. Eles se alojam próximo ao cilindro vascular e iniciam seu parasitismo, transformando as células nutridoras por hipertrofia ao redor do seu corpo e delas se nutrem por todo o ciclo, com isso os nematoides adquirem forma globosa, podendo ser vistos a olho nu (FERRAZ; BROWN, 2002). Devido ao parasitismo, ocasionam redução de crescimento da planta, as quais ficam com tamanho desigual a campo, murcha, desfolha e diminuição da produção. O crescimento populacional é alto, podendo levar a perdas consideráveis em curto período de tempo (ALMEIDA et al., 2005).

Os nematoides do gênero *Heterodera* Schmidt são conhecidos por serem formadores de cistos nas raízes vegetais. No Brasil, a espécie que tem infectado e causado perdas significativas na cultura da soja é *H. glycines* (FERRAZ; MONTEIRO, 2011). O ciclo de vida é bastante semelhante aos nematoides das galhas, contudo, quando adultas, as fêmeas forçam o rompimento do córtex da raiz e expõe a parte posterior do corpo para que haja a cópula. Outra característica é que quando adultas, seus corpos tomam aspecto de couro, formando o cisto, muito importante para a proteção e disseminação, além da sobrevivência por períodos prolongados no solo (NOE, 2010). Os sintomas comuns da ocorrência desse grupo de nematoides incluem reboleiras de plantas mal desenvolvidas e cloróticas, denominado

“nanismo amarelo”, aparentando deficiência nutricional de potássio e manganês (ALMEIDA et al., 2005).

Causadores de lesões no sistema radicular, o gênero *Pratylenchus* Filipjev é o segundo grupo de maior importância agrícola no Brasil dentre os nematoides. As principais espécies causadoras de prejuízos à agricultura nacional são *P. brachyurus*, *P. coffeae* (Zimmermann) Filipjev e S. Stekhoven e *P. zaeae* Graham (FERRAZ; MONTEIRO, 2011). Diferente de outros grupos de nematoides, o *Pratylenchus* spp., após eclosão, pode infectar em todos os seus estádios de desenvolvimento e são classificados como endoparasitas migratórios, podendo movimentar-se em diferentes raízes, ou abandoná-las a qualquer momento. Devido a esta movimentação, causam lesões radiculares, características desse grupo de fitonematoides (NOE, 2010). Essas lesões são consequência da desorganização e destruição celular, além de injeção de toxinas em cada célula que utiliza como dreno para alimentação, e o resultado desse processo é a redução do sistema radicular e lesões necróticas (ALMEIDA et al., 2005; HENING et al., 2012). *Pratylenchus brachyurus* encontra-se disseminado por todo o mundo, atingindo grandes áreas de milho, soja, feijão, algodão, café, cana-de-açúcar, além de ser importante no cultivo de hortaliças, frutíferas e plantas ornamentais (HENING et al., 2012; PINHEIRO, 2013).

Anteriormente, esses nematoides já se encontravam instalados e distribuídos pelas regiões agrícolas do Brasil, porém nos últimos anos alguns fatores relacionados com a intensificação de cultivos, o cultivo contínuo de monoculturas, sucessão com plantas suscetíveis ao nematoide e fatores associados ao sistema de plantio direto, como a compactação do solo e umidade adequada para multiplicação dos nematoides, contribuíram para o aumento populacional e da distribuição nas áreas de cultivo de soja (INOMOTO, 2008).

Em algumas regiões do Brasil, a produtividade de cultivares suscetíveis tem sido, em média, 400 kg ha<sup>-1</sup> menor que a das variedades resistentes (MACHADO, 2014), podendo causar perdas de 21% da produtividade no cerrado brasileiro (ANTONIO et al., 2012).

Nematoides, como outros organismos habitantes do solo, são de difícil controle e práticas isoladas em geral não dão efeito satisfatório na redução da população. Assim, faz-se necessário a adoção do manejo integrado, combinando medidas de exclusão, utilização de plantas antagonistas, controle químico, adubação verde, cultivares resistentes, rotação de culturas, pousio e controle biológico (INOMOTO, 2008).



### Estratégias para o manejo de *Pratylenchus brachyurus*

O controle genético, com a implantação de variedades resistentes, é o método mais desejável, por ser o prático e barato. Além disto, esta modalidade de controle pode ser aplicada em áreas de grande escala e causar baixo impacto ambiental, comparado aos agrotóxicos (CAMARGO, 2011). Porém, segundo Goulart (2009), para as espécies de *Pratylenchus* spp., é um manejo difícil de ser empregado, por serem polípagos e de hábito alimentar migrador e não fixarem células nutridoras.

A rotação de culturas destaca-se como uma das estratégias mais interessantes para o controle de nematoides. Segundo Fonseca (2012), esta prática demonstrou ser boa opção quando se utilizou híbridos de milho que possibilitaram a redução de população de *P. brachyurus*. Já em experimento realizado por Dias-Arieira et al. (2009), a hospedabilidade de milho a *P. brachyurus* foi elevada, comparada com a utilização de outras espécies para rotação de culturas, como *Brachiaria brizantha*, *B. decumbens*, *Panicum maximum* e *Andropogon gayanus*, que se mostraram ser viáveis para substituir o milho. Mesmo assim, os autores observaram que o fator de reprodução do nematoide nestas culturas foi superior a um. Em avaliação de vários genótipos de braquiária e estilosantes, Santos et al. (2011) observaram que *Stylosanthes apitata* e *Stylosanthes macrocephala* foram resistentes a *P. brachyurus* e, portanto, recomendados como sucessão com a cultura da soja. Avaliando fatores de reprodução de *P. brachyurus* em diversas espécies vegetais, Ribeiro et al. (2007) encontraram resultados significativos que demonstraram eficiência no controle de nematoides com algumas variedades de girassol, guandu anão e guandu fava larga e algumas variedades de milheto, e resultados ainda mais significativos com *Crotalaria breviflora*, *C. juncea*, *C. mucronata*, *C. ochroleuca* e *C. spectabilis*.

Baixos fatores de reprodução também foram encontrados em duas variedades de milheto, ‘ADR 300’ e ‘ADR 7010’, as quais foram consideradas não hospedeiras de *P. brachyurus* e opção para sucessão com a soja (LOPES, 2011). O arroz cv. Iapar 9 e a *C. juncea* também foram apontadas como más hospedeiras do nematoide e possíveis opções para compor sistemas de rotação de cultura com a soja (SANTANA-GOMES et al., 2014).

Para o manejo de nematoides na cultura da soja, existem algumas formulações químicas nematicidas disponíveis no mercado, indicadas principalmente para o tratamento de sementes, que têm demonstrado eficácia na redução de populações de fitonematoides

(CABRERA et al., 2009). A abamectina foi citada em vários trabalhos como sendo capaz de controlar nematoides, sendo muitas vezes superior a outros tratamentos realizados (BORTOLINI et al., 2013).

Almeida (2014), em testes de tratamento de sementes em casa de vegetação e *in vitro*, constatou que a utilização de abamectina, tiametoxam, fludioxonil, metalaxil-M e tiabendazole, foram eficientes em promover o desenvolvimento das plantas de soja inoculadas com *M. javanica*, sendo que a abamectina apresentou bom controle do nematoide e maior mortalidade, eclosão e imobilização de juvenis, uma vez que aproximadamente 99,9% dos juvenis permaneceram imóveis. Segundo Corte et al. (2014), quando utilizaram o tratamento com abamectina+tiametoxam+fludioxonil+metalaxil-M+tiabendazol, houve controle de *P. brachyurus* de 75,4%, quando aplicado em tratamento de sementes, 84,2%, em tratamento de sementes e aplicação no sulco, e 78,9% apenas no sulco. Avaliando a eficiência do uso de nematicidas para reduzir o inóculo das populações de *P. brachyurus*, utilizando abamectina, thiamethoxam e fludioxonil, observou-se que o tratamento de semente proporcionou proteção das raízes, permitindo seu desenvolvimento e formando uma barreira contra os nematoides, evitando o início de um novo ciclo (LOPES, 2011).

Mais recentemente, os indutores de resistência começaram a ser pesquisados para o controle de nematoides, bem como outras doenças, na cultura da soja. O processo consiste em ativar mecanismos de resistência que se encontram latentes na planta e, em geral, é desencadeado por agentes externos, bióticos (microrganismos ativados) ou abióticos (metais pesados ou produtos químicos sintéticos, como acibenzolar-S-metil) (CAVALCANTI et al., 2005). A proteção sistêmica em plantas pode ser classificada como resistência sistêmica adquirida (RSA) ou resistência sistêmica induzida (RSI), cujas rotas bioquímicas ativadas são distintas, mas o resultado fenotípico semelhante (PASCHOLATI; LEITE, 1995).

A RSA ocorre naturalmente, podendo ser uma proteção local ou sistêmica e sua duração pode ser de poucos dias, algumas semanas ou durante todo o ciclo da planta (PASCHOLATI; LEITE, 1995). A indução pode ocorrer pela ativação de genes que codificam uma série de proteínas relacionadas à patogênese e enzimas envolvidas na síntese de lignina e fitoalexinas, como peroxidases e polifenoloxidasas (RESENDE et al., 2000). Ela é ativada após a infecção localizada por fitopatógenos (MORAES, 1998) ou pela aplicação de produtos químicos indutores, como o acibenzolar-S-metil.

Na RSI, apesar de ser fenotipicamente igual a RSA, tem como agente ativador dos mecanismos de resistência os organismos que se associam benéficamente ao sistema radicular, incluindo fungos e bactérias, como *Trichoderma* spp. e *Bacillus* spp., e a molécula sinalizadora é mediada pelo ácido jasmônico e o etileno, sem envolver a expressão de proteínas relacionadas à patogênese (VAN LOON et al., 1998).

A atividade dos indutores de resistência contra nematoides é resultado da paralização do desenvolvimento de células nutridoras ou até mesmo uma reação de hipersensibilidade, na qual pode ser observada a necrose no sítio de alimentação alguns dias após a infecção (BAKKER et al., 2006). A resposta inclui a morte programada de células, produção de metabólitos secundários antimicrobianos (fitoalexinas), produção de proteínas relacionadas com a patogênese (PR-proteínas), como as quitinases,  $\beta$ -1,3-glucanases, proteínas RIPS, defensinas e lignificação da parede celular (VAN LOON, 1997). Se comparado com nematicidas comuns, os indutores apresentam uma série de vantagens, tais como: baixa toxicidade, melhor biodegradação, efetividade contra diversos patógenos, além de múltiplos modos de ação que reduzem a probabilidade de o parasita desenvolver resistência esses mecanismos (BARBOSA et al., 2010).

O acibenzolar-S-metil ou ASM (benzothiadiazole, nome comercial: Bion 500 WG), um análogo do ácido salicílico, tem sido o produto indutor mais utilizado comercialmente no controle de patógenos de parte aérea e é considerado um dos mais potentes ativadores sintéticos da resistência sistêmica induzida (KESSMANN et al., 1994; GÖRLACH et al., 1996). Tal produto foi eficiente em promover a diminuição do fator de reprodução de *P. brachyurus* na cultura da soja (FREIRE, 2015). Homiak et al. (2017) constataram, através da aplicação de indutores em soja, que houve redução do número de *P. brachyurus* por grama de raiz quando o ASM foi aplicado isoladamente ou combinado com tratamento de sementes. Cardoso et al. (2016), semelhantemente, demonstrou a eficiência de ASM (0,50 g i.a.<sup>-1</sup> L) para redução de *P. brachyurus* na cultura do milho, a qual já havia sido anteriormente citada por Puerari et al. (2015). Lopes (2015) demonstrou que a utilização de ASM promoveu redução a população deste nematoide em até 60% quando aplicado isoladamente e em 75% se associado ao tratamento de sementes de soja com nematicida químico. Além das culturas anuais, o ASM tem sido pesquisado para o controle de nematoides das lesões na cultura da cana-de-açúcar, com resultados promissores no controle de populações isoladas ou mistas (GUIMARÃES, 2007; LOBO et al., 2010; WITTER et al., 2013).

Outro composto estudado como indutor de resistência que pode causar o acúmulo de metabólitos secundários nas plantas e melhorar a capacidade de suportar ataque de nematoides é o Ecolife<sup>®</sup>. Trata-se de um composto comercial, produzido industrialmente, derivado da fermentação e algumas plantas cítricas, que apresenta mecanismos de indução pelo aumento na produção de fitoalexinas (SOBRINHO et al., 2005). Tal produto foi eficiente no controle de *P. brachyurus* em milho, proporcionando redução no número de ovos por grama de raiz, independente da época de aplicação em plantas suscetíveis (PUERARI et al., 2015).

No que tange ao controle biológico, são inúmeros os organismos considerados inimigos naturais de nematoides parasitas de plantas, como nematoides predadores, tardígrados, vírus, artrópodes, ácaros, fungos e bactérias (MELO; AZEVEDO, 1998). O controle biológico tem como objetivo reduzir as atividades patogênicas e, conseqüentemente, diminuir a incidência de doenças de plantas e pode ser conferido por um ou mais organismos antagonistas (MARIANO et al., 2005). Tal método ocorre rotineiramente na natureza (AGRIOS, 2005), apresentando uma série de vantagens em comparação com o uso constante de produtos químicos, pois não contamina ou desequilibra o ecossistema, não deixa resíduos e ainda é uma opção viável e de fácil aplicação (SOARES, 2006).

Os primeiros registros relativos ao controle biológico de nematoides no Brasil, foram feitos por Alcântara e Azevedo (1981), que isolaram alguns fungos a partir de nematoides infectados. A partir daí as pesquisas para o controle biológico de nematoides foram constantes e envolveram diferentes antagonistas.

Existem vários organismos presentes na microbiota do solo que apresentam características naturais para combater a ação de agentes parasitas de plantas. A bactéria *Pasteuria* spp., por exemplo, tem papel fundamental na redução de população de nematoides, como demonstrado em diferentes patossistemas (SHARMA et al., 2003; VIVALDI, 2003; PIMENTA; CARNEIRO, 2005; GONZAGA; SANTOS, 2009). A presença de endósporos de *P. thornei* aderidos à cutícula do nematoide, bem como a presença de bactéria no interior do corpo de *P. brachyurus* foi detectada por Gonzaga e Santos (2009).

Outros organismos importantes presentes em solo que tem a função de inibir tais ações são os fungos *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson e *Pochonia chlamydosporium* (Goddard) Zare e Gams, que tem ação direta na degradação de ovos, cistos e fêmeas, e são considerados bons agentes de controle devido a capacidade saprofítica de sobrevivência no

solo sem a presença do nematoide (SOARES, 2006). Devido à característica parasitária voltada ao controle de nematoides sedentários, grande parte das pesquisas com esses fungos, visa o manejo de nematoides das galhas, cistos e reniforme (CADIOLI et al., 2007; CADIOLI et al., 2009; NUNES et al., 2010; CASTILLO et al., 2013; MUKHTAR et al., 2013; ALMEIDA et al., 2016).

Os fungos do gênero *Trichoderma* spp. também são encontrados naturalmente nos solos brasileiros e possuem elevado potencial para o controle biológico de nematoides, com resultados promissores para o controle de diferentes espécies (SHARON et al., 2007; FREITAS et al., 2012; BORGES et al., 2013; GIEHL et al., 2015; ZHANG et al., 2015).

#### *Trichoderma* como agente de controle biológico

Dentro do controle biológico, o fungo *Trichoderma* spp. se destaca por apresentar alta variabilidade genética, atuando de diversas formas nos patógenos, podendo ser aproveitados para produzir ampla variedade de produtos comerciais de importância ecológica. O gênero pode ser caracterizado como grupo de fungos de vida livre, micoparasitas necrotróficos e corresponde a fase anamórfica do gênero *Hypocrea* sp., que pertence ao filo Ascomycota (AGRIOS, 2005). São classificados, segundo Kruger e Bacchi (1995), na subdivisão Deutomycotina, que são caracterizados pela produção de conídios formados a partir de células conidiógenas ou por fragmentação do talo micelial. O ciclo sexual de algumas linhagens não é conhecido, porém sua fase teleomórfica é tipicamente vista quando ele está colonizando madeira (HARMAN et al., 2004). São fungos isolados em diferentes tipos de solos, que em meio de cultura formam colônias rapidamente. O micélio é composto por hifas hialinas de parede lisa e bem ramificadas, geralmente de vários tons de verde, devido a pigmentação e quantidade dos conídios, sendo que o tipo de meio de cultivo e o pH também podem influenciar na coloração (MELO, 1991).

A partir do experimento precursor de Weindling e Fawcett, realizado em 1936, utilizando estirpes de *Trichoderma* no controle de *Rhizoctonia solani* Kuhn em citros, a ação do *Trichoderma* spp. como agente de controle biológico vem sendo estudada e o sucesso deste gênero é devido à agressividade no combate aos fungos fitopatogênicos do solo (RIBEIRO, 2010). Tem demonstrado em vários trabalhos grande eficácia no controle de alguns grupos de fungos fitopatogênicos, como *Sclerotinia sclerotiorum*, *R. solani*, *Fusarium* spp., *Pythium aphanidermatum*, entre outros (ETHUR et al., 2001; PORRAS et al., 2007; AL-

SHAMMARI et al., 2013). Dias (2011), em testes de vários isolados de *Trichoderma* spp., observou que alguns foram eficientes na produção de compostos não-voláteis que promoveram inibição do crescimento micelial de *R. solani* e *Sclerotium rolfsii*.

Além da eficiência para o controle de fungos fitopatogênicos, os fungos do gênero *Trichoderma* demonstram-se promissores na diminuição da população de nematoides, por serem fungos saprófitas (LOPEZ-LLORCA et al., 2008; BORGES et al., 2013). Em seleção de *Trichoderma* como agente de biocontrole de nematoides, Freitas et al. (2012) encontraram vários isolados que tiveram ação enzimática e promoveram mortalidade de juvenis de nematoide das galhas após a eclosão.

Segundo Zhang et al. (2015), *T. longibrachiatum* foi capaz de reduzir a infecção por *M. incognita* em plantas de pepino e ainda observaram acréscimo nos parâmetros vegetativos avaliados, com redução de 88% de fêmeas nas raízes e até 94% de redução de juvenis no solo. Sahebani e Hadavi (2008) demonstraram que *T. harzianum*, em diferentes concentrações de esporos, diminuiu a infecção de *M. javanica* em tomate e parasitou massas de ovos, reduzindo o tempo de incubação dos mesmos. No controle de *Heterodera avenae*, *T. longibrachiatum* promoveu redução do nematoide no solo em 82% e na raiz em 84% e, além do decréscimo de 81% no número de cistos, observaram o aumento da altura de plantas, aumento de raiz e parte aérea (ZHANG et al., 2014). Al-Hazmi e TariqJaveed (2015) observaram que em todas as densidades de inóculo de *T. harzianum* e *T. viride* reduziram a reprodução e danos causados por *M. javanica* em tomateiro; além disto, os parâmetros vegetativos aumentaram com o incremento nas densidades do fungo.

#### Modo de ação do fungo *Trichoderma* sobre nematoides

Os fungos do gênero *Trichoderma* podem realizar o biocontrole de nematoides na rizosfera atuando de diferentes formas, incluindo antibiose, parasitismo, competição, indução de resistência e promoção do crescimento. Tais organismos agem como biocontroladores devido a ação específica de cada mecanismo ou pela associação entre eles (MELO, 1998).

Os modos de ação dos fungos *Trichoderma* sobre os nematoides ainda não estão totalmente elucidado. No entanto, o parasitismo tem apresentado importante papel na eficiência destes fungos e há trabalhos que mostram que a alta capacidade de infecção destes fungos ocorre pela atividade quitinolítica, que cliva as ligações glicosídicas da parede dos ovos, destruindo-os, sendo que os genes CHI18-5 e CHI18-12 são essenciais para que isto

ocorra (SZABÓ, 2012). A atividade quitinolítica também foi evidenciada no controle de nematoides do cisto, cuja estrutura de sobrevivência (cisto) também é composta por quitina e, neste caso, após 18 dias, 90% dos ovos e nematoides presentes no cisto encontravam-se parasitados pelo fungo (ZHANG et al., 2014).

Além da ação parasitária sobre os ovos e cistos, *T. harsianum* também foi eficiente em parasitar juvenis de *M. javanica*, sendo a proteinase PRB1 indicada como responsável pela infecção e colonização do nematoide pelo fungo (SHARON et al., 2001). *Trichoderma longibrachiatum*, por sua vez, foi capaz de infectar e parasitar *M. incognita*, quando aplicado via suspensão de conídios sobre os nematoides, com reduções de 88% dos nematoides vivos após 14 dias, sendo a ação conferida a uma enzima denominada serina protease, que apresenta alta capacidade nematicida, devido a distúrbios fisiológicos ocasionados nos juvenis (ZHANG et al., 2015). Estudando a eficiência de cinco espécies de *Trichoderma* spp. contra os nematoides *Helicotylenchus* sp. e *Scutellonema* sp., Chanu et al. (2015) observaram que os fungos produziram conídios, esporos e micélio que se aderiram à superfície do nematoide, germinaram e penetraram na cutícula, estenderam suas hifas no interior do nematoide e se multiplicaram e ocorreu a imobilização o hospedeiro, pela ação de enzimas. Quando aplicados no solo, trabalhos recentes mostraram que *Trichoderma* spp. tem apresentado potencial em reduzir a reprodução do nematoide em diferentes patossistemas (NASERINASAB et al., 2011; MASCARIN et al., 2012; JINDAPUNNAPAT et al., 2013; AL-HAZMI; TARIQ JAVEED, 2016). Tariq Javeed e Al-Hazmi (2015) demonstraram que *T. harzianum*, além de reduzir o número de galhas por raiz e o fator de reprodução de *M. javanica*, promoveu aumento na massa fresca de parte aérea de plantas tratadas.

Uma característica importante de algumas espécies de *Trichoderma* é a capacidade de promover o crescimento de plantas como resultado da síntese de substâncias estimuladoras de crescimento e aumento na disponibilidade e no estímulo da absorção de nutrientes do solo (BAKER, 1987). Assim, o fungo pode ser encontrado causando efeitos no crescimento de diferentes espécies vegetais (PRATES et al., 2006; DIAS, 2011; PEREIRA, 2012). A promoção do desenvolvimento e crescimento de plantas submetidas ao *Trichoderma*, ocorre pela interferência do fungo com os vegetais através da sua capacidade de colonizar raízes (HARMAN et al., 2004), e esse mecanismo pode estar relacionado com a produção de hormônios, maior eficiência no uso de nutrientes e aumento na disponibilidade e absorção de nutrientes pela planta (LUCON, 2009).

Além disto, de acordo com Harman et al. (2004), a interação do fungo com a planta pode ocasionar em uma série de eventos na fisiologia vegetal, em que a finalidade é promover a resistência através de produção de metabólitos e proteínas com várias funções na planta, que acabam modificando o genoma vegetal. Sahebani e Hadavi (2008) comprovaram que tomateiro tratado com *T. harzianum* apresentou aumento em diversas proteínas de resistência, incluindo peroxidase, polifenol oxidase e fenilalanina amônia-liase aumentando a resistência da planta ao ataque de *M. javanica*, principalmente no que diz respeito à penetração. Soma-se a isto o fato de que quando aplicado no filoplano, houve redução significativa da reprodução de *M. incognita* em feijoeiro, corroborando a hipótese de indução de resistência em plantas à nematoides desencadeada por *Trichoderma* spp.



## REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5 ed. Amsterdam: Elsevier Academic, p.922. 2005.
- ALCÂNTARA, V. S. B.; AZEVEDO, J. L. de. Isolamento e seleção de fungos predadores de nematoide. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 56, p. 132-146, 1981.
- ALMEIDA, J. A.; SOUZA, J. C.; ARAÚJO, F. G. Tratamento de sementes com abamectina e *Paelilomyces lilacinus* no manejo de *Heterodera glycines* na cultura da soja. **Multi-Science Journal**, Urutaí, v. 1, n. 4, p. 62-65, 2016.
- ALMEIDA, A. A. de. **Tratamento de sementes como alternativa para o controle de *Meloidogyne javanica* em soja *Glycine max* (L.) Merrill**. Tese (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.
- ALMEIDA, A. M. R. Observação de resistência parcial a *Septoria glycines* em soja. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 214-216, 2001.
- ALMEIDA, A. M. R. et.al. Doenças da soja (*Glycine max*). In: KIMATI, H. [et al]. **Manual de Fitopatologia**. 4ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, p 569-588, 2005.
- AL-HAZMI, A. S.; TARIQ JAVEED, M. Effects or diferente inoculum densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Meloidogyne javanica* on tomato. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Riyadh, v. 23, n. 2, p. 288-292, 2016.
- AL-SHAMMARI, T. A.; BAHKALI, A. H.; ELGORBAN, A. M.; EL-KAJKY, M. T.; AL-SUM, B. A. The use of *Trichoderma longibrachiatum* and *Mortierella alpina* against root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* on tomato. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, Shahjahanabad, v.7, p 199-207, 2013.
- ANTONIO, S.F; MENDES, F.L.; FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; DIAS, W.P. **Perdas de produtividade da soja em área infestada por nematoides das lesões radiculares em Vera, MT**. VII Jornada Acadêmica da Embrapa Soja, 2012. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/67765/1/ID-33379.pdf>> Acesso em: 20/11/2015
- BAKER, R. Microparasitism: ecology and physiology. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Londres, v. 2, p. 370-379, 1987.
- BAKKER, E.; DEES, R.; BAKKER, J.; GOVERSE, A. Mechanisms involved in plant resistance to nematodes. In: TZUN, S.; BENT, E. (Eds.). **Multigenic and induced systemic resistance in plants**. New York: Springer Science, 2006. p. 314-334.
- BARBOSA, L. F.; AMORIM, E. P. R.; COSTA, V. K. S.; SILVA, J. C.; ALENCAR, L. M. C.; SILVA, C. J. Uso de produtos alternativos no controle de nematoides na cultura do inhame (*Dioscorea sp.*). **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, Botucatu, v. 6, p. 241-246, 2010.

BATISTA, H. R.; SILVA, A. C.; LIMA, E. P. C. A Importância da Soja para o Agronegócio Brasileiro: Uma Análise sob o Enfoque da Produção, Emprego e Exportação. In: V Encontro de Economia Catarinense, 2011, Florianópolis - SC. **Anais...** V EEC - Crescimento e Sustentabilidade, 2011.

BORGES, F. G.; BATTISTUS, A.G.; MÜLLER, M. A.; MIORANZA, T. M.; KUHN, O. J. Manejo alternativo de nematoides de galha (*Meloidogyne incognita*) em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Candido Rondon, v.12, p. 425-433, dez/2013.

BORTOLINI, G. L.; ARAÚJO, D. V. de; ZAVISLAK, F. D.; JUNIOR, D. R.; KRAUSE, W. Controle de *Pratylenchus brachyurus* via tratamento de semente de soja. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia: Centro Científico Conhecer, v. 9, n. 17, p. 818-830, 2013.

BRAND, D.; SOCCOL, C. R.; SABU, A.; ROUSSOS, S. Production of fungal biological control agents through solid state fermentation: a case study on *Paecilomyces lilacinus* against rootknot nematodes. **Micología Aplicada Internacioanl**, Puebla, v. 22, n. 1, p. 31-48, 2010.

CABRERA, J. A.; KIEWNICK, S.; GRIMM, C.; DABABAT, A. A.; SIKORA, R. A. Efficacy of abamectin seed treatment on *Pratylenchus zae*, *Meloidogyne incognita* and *Heterodera schachtii*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v. 116, n. 3, p. 124-128, 2009.

CADIOLI, M. P.; SANTIAGO, D. C.; HOSHINO, A. T.; HOMECHIN, M. Crescimento micelial e parasitismo de *Paecilomyces lilacinus* sobre ovos de *Meloidogyne paranaensis* em diferentes temperaturas in vitro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 305-311, mar./abr., 2007.

CADIOLI, M. P.; SANTIAGO, D. C.; OLIVEIRA, A. D. de; PAES, V. dos S.; ARIEIRA, G. de. O.; BAIDA, F. C. Efeito de isolados de *Paecilomyces lilacinus* no desenvolvimento de cafezais e na população de *Meloidogyne paranaensis*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 3, p. 713-720, 2009.

CAMARGO, L. E. A. Controle Genético. In: AMORIM, L., REZENDE, J.A.M., FILHO, A.B. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.1, p. 325-340, 2011.

CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STANGARLIN, J. R. Aspectos Bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed). **Indução de Resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, p. 81-124, 2005.

CHANU, L. B.; MOHLIAL, N.; SHAD, M. M. Evaluation of the efficiency of some antagonistic Trichoderma spp. in the management of plant parasitic nematodes. In: SHAH, M. M. **Microbiology in Agriculture and Human Health**, Índia, p. 1-30, 2015.

CORTE, G. D.; PINTO, F. F.; STEFANELLO, M. T.; GULART, C.; RAMOS, J. P. de; BALARDIN, R. S. Tecnologia de aplicação de agrotóxicos no controle de fitonematoides em soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.9, p.1534-1540, 2014.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**. v. 4, n.3, Safra 2016/2017, Brasília, p. 1-156, dezembro 2016. Disponível em: < <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253> > Acesso em: 20 dez/2016

DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERRAZ, S.; RIBEIRO, R. C. F. Reação de Gramíneas Forrageiras a *Pratylenchus brachyurus*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.33, n1. p.90-93, 2009.

DIAS, P. P. **Controle biológico de fitopatógenos de solo por meio de isolados de fungos do gênero *Trichoderma* e sua contribuição no crescimento de plantas**. Tese (Doutorado em ciências) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2011.

DIAS, W. P.; ASMUS, G. L.; SILVA, J. F. V.; GRACIA, A.; CARNEIRO, G. E. de S. Nematoides. In: ALMEIDA, A. M. R.; SEIXAS, C. D. S. **Soja: Doenças radiculares e de hastes e inter-relações com o manejo do solo e da cultura**. 1 ed. Londrina: Embrapa Soja, 2010. v.1. p. 173-203.

DIAS, W.P.; GARCIA, A.; SILVA, J. F. V.; CARNEIRO, G. E. de S. **Nematoides em Soja: Identificação e Controle**. Circular Técnica 76. Embrapa Soja. Londrina-PR, abr. 2010.

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

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **An Introduction to Nematodes**: Plant Nematology. Sofia, Pensoft, 2002.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia**: Princípios e Conceitos. 4 ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. v.1, p. 277- 305.

FONSECA, R. G. **Comportamento de híbridos de milho, em sucessão a soja, ao nematoide *Pratylenchus brachyurus***. Dissertação (Mestrado em agronomia) - Universidade Federal de Lavras, 48p., LAVRAS, 2012.

FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; DIAS, W.P.; RAMOS JUNIOR, E.U.; SILVA, J.F.V. Perda de produtividade da soja em área infestada por nematoide das lesões radiculares na região médio norte do Mato Grosso. In: BERNARDI, A. C. de C.; NAIME, J. de M.; RESENDE, A.V. de; BASSOI, L.H.; INAMASU, R.Y. (Ed.). **Agricultura de precisão: resultados de um novo olhar**. Brasília: Embrapa, p.274-278, 2014.

FREIRE, L. L. **Indução de Resistência de cultivares de soja a *Pratylenchus brachyurus***. Tese (Mestrado em Agronomia) Universidade Federal de Goiás, 2015.

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

GIEHL, J.; REINIGER, L. R. S.; FRUET, S. F. T.; SILVA, B. R. da; MIRANDA, F. Efeito de *Trichoderma spp.* no cultivo de feijoeiro comum em condições de campo sob estresse por nematoides. In: IX Congresso Brasileiro de Agroecologia, 2015, Belém. **Anais...** v. 10, n. 3, 2015.

GONZAGA, V.; SANTOS, J. M. Detecção de *Pasteuria thornei* em *Pratylenchus brachyurus* e *P. zaeae*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.33; n.1, p. 103-105, 2009.

GÖRLACH, J.; VOLRATTH, S.; BEITER, G. K.; HENGY, G.; BECKHOVE, U.; KOGEL, K. H.; OOSTENDORP, M.; STAUB, T.; WARD, E.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. **The Plant Cell**, Waterbury, v. 8, p. 629-643, 1996.

GOULART, A. M. C. **Aspectos gerais sobre nematoides-das-lesões-radiculares (gênero *Pratylenchus*)**. Planaltina-DF: Embrapa Cerrados, 2009.

GUIMARÃES, L. M. P. **Eficiência de indutores no manejo integrado de *Meloidogyne spp.* e *Pratylenchus zaeae* em cana-de-açúcar**. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichodema* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature**, Geneva, v. 2, p. 43-56, 2004.

HENING, A. A.; ALMEIDA, A. M. R.; GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; YORINORI, J. T.; COSTAMILAN, L. M.; FERREIRA, L. P.; MEYER, M. C.; SOARES, R. M.; DIAS, W. P. **Manual de identificação de Doenças de soja**. Londrina: EMBRAPA, 2005. 72p.

HOMIAK, J. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Tratamento de sementes e indutor de resistência no controle de *Pratylenchus brachyurus* em soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, XXXII, 2015, Londrina, Resumos... Londrina, 2015.

INOMOTO, M. M. **Importância e manejo de *Pratylenchus brachyurus***. Revista Plantio Direto, edição 108, novembro/dezembro. 2008. Disponível em: <[http://www.plantiodireto.com.br/?body=cont\\_int&id=894](http://www.plantiodireto.com.br/?body=cont_int&id=894)> Acesso em: 14 setembro 2015.

JINDAPUNNAPAT, K.; CHINNASRI, B; KWANKUAE, S. Biological control of Root-knot nematodes (*Meloidogyne enterolobii*) in guava by the fungus *Trichoderma harzianum*. **Journal of Development Sustainable of Agricultura**, Bangkok, v. 8, p. 110–118, 2013

KESSMANN, H.; STAUB, T.; HOLFMAN, C.; MAETZKE, T.; HERZOG J.; WARD, E.; UKNES, S.; RYALS, S. J. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. **Phytopathology**, Palo Alto, v. 32, p. 439-459, 1994.

KRUGER, T. L.; BACCHI, L. M. A. Fungos. In: FILHO, A. B.; KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 3 ed. São Paulo, Agronômica Ceres, 46-95, 1995.

LÔBO, L. M.; ROCHA, M. R.; SANTOS, L. C.; BARBOSA, K. A. G.; ALVES, T. G.; TEIXEIRA, R. A.; ARAÚJO, F. G. Efeito de Indutor de Resistência sobre a densidade populacional de *Pratylenchus brachyurus* em Cana-de-açúcar. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO, 7, 2010, Goiânia, GO. **Anais...Goiânia: 2010**, p 5844 – 5852.

LOPES, L. R. **Densidade populacional, hospedabilidade e manejo de lavoura de soja, no controle de *Pratylenchus brachyurus* no Mato Grosso**. Dissertação (mestrado em fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa. VIÇOSA, 2011.

LOPEZ-LLORCA, L. V.; MACIÁ-VICENTE, J. G.; JANSSON, H.-B. Mode of action and interactions of nematophagous fungi. **Springer Netherlands**, 2008. p. 51-76.

MACHADO, A. C. Z. Nematoides devastam lavouras de soja. **Revista Campo & Negócios**. Dez, 2014. Disponível em: <<http://www.revistacampoenegocios.com.br/nematoides-devastam-lavouras-de-soja/>> Acesso em: 22/11/2015

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. M. A. Controle Biológico de Doenças radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos tropicais**. UFRPE, Recife. 2005.

MASCARIN, G. M.; JUNIOR, M. F. B., FILHO, J. V., de A. *Trichoderma harzianum* reduces population of *Meloidogyne incognita* in cucumber plants under greenhouse conditions. **Journal of Entomology and Nematology** Nairobi, v. 4, p. 54-57, 2012.

MELO, I. S. **Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas**. In: BETTIOL, W. (Org.). Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, doc 15, 1991.

MELO, I.S. **Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos**. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L (Ed.). Controle biológico. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, V.1, p.17-67, 1998.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Ecologia Microbiana**. Jaguariúna: Embrapa – CNPMA, p. 393-419, 1998.

MORAES, M. G. Mecanismo de Resistência Sistêmica Adquirida em Plantas. **Revisão Anual Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 6, p. 261-284, 1998.

MUKHTAR, T.; HUSSAIN, M. A.; KAYANI, M. Z. Biocontrol potential of *Pasteuria penetrans*, *Pochonia chlamidosporia*, *Paecilomyces lilacinus* and *Trichoderma harzianum* against *Meloidogyne incognita* in okra. **Phytopathologia Mediterranea**, Firenze, v. 52, n. 1, p 66-76, 2013.

NASERINASAB, F.; SAHEBANI, N.; ETEBARIAN, H.R. Biological control of *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum* BI and salicylic acid on tomato. **African Journal of Food Science**, v. 5, p. 276–280, 2011.

NOE, J. P. Nematoides Parasitas de Plantas. In: TRIGIANO, R. N.; WINDHAM, M. T.; WINDHAM, A. S. **Fitopatologia: Conceitos e Exercícios de laboratório**. Porto Alegre: Artmed. p 83-96, 2010.

NUNES, H. T.; MONTEIRO, A. C.; POMELA, A. W. V. Uso de agentes microbianos e químico para controle de *Meloidogyne incognita* em soja. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n.3, p. 403-409, 2010.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds) **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. Ed. São Paulo: Agronômica Ceres, p.417-453, 1995.

PEREIRA, G. V. N. **Promoção do crescimento de mudas de maracujazeiro inoculadas com *Trichoderma* spp.** Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 88 p., 2012.

PIMENTA, C. A. M.; CARNEIRO, R. M. D. G. **Utilização *Pasteuria penetrans* em controle biológico de *Meloidogyne javanica* em duas culturas sucessivas de alface e tomate**. Brasília – Embrapa. Boletim de pesquisa e Desenvolvimento, 35p, 2005.

PINHEIRO, J. B. **Nematoides na cultura da mandioquinha-salsa**. Circular técnica Embrapa. Brasília, 2013.

PORRAS, M.; BARRAU, C.; ARROYO, F. T.; SANTOS, B.; BLANCO, C.; ROMERO, F. Reduction of *Phytophthora cactorum* in strawberry fields by *Trichoderma* spp. and soil solarization. **Plant Disease**, St. Paul, v. 91, n. 2, p. 142-146, 2007.

PRATES, H. S.; CESMIK, R.; FERRAZ, J. M. G. ***Trichoderma* spp. no controle de doenças de plantas**. Folder técnico SAA/ EMBRAPA, 2006.

PUERARI, H.H.; DIAS-ARIEIRA, C.R.; CARDOSO, M.R. Acibenzolar-s-metil no controle de *Pratylenchus brachyurus* em dois genótipos de milho. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, XXXII, 2015, Londrina, **Resumos...** Londrina, 2015.

RESENDE, M. L. V.; NOJOSA, G. B. A.; AGUILAR, M. A. G.; SILVA, L.H.C.P.; NIELLA, G. R.; CARVALHO, G. A.; GIOVANINI, G. R.; CASTRO, R. M. Perspectivas da indução de resistência em cacaueteiro contra *Crinipellis pernicioso* através do benzotiadiazole (BTH). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, p.149-156, 2000.

RIBEIRO, N. R.; DIAS, W. P.; HOMECHIN, M.; SILVA, J. F. V.; FRANCISCO, A.; LOPES, L. de O. N. Relação de algumas espécies vegetais a *Pratylenchus brachyurus*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 31, n. 2, p. 157, ago. 2007.

RIBEIRO, M.S. **Estudo da produção de fosfatase ácida por *Trichoderma harzianum***. Tese (Mestrado em biologia) Universidade Federal de Goiás, 2010.

SAHEBANI, N.; HADAVI, N. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Soil Biology & Biochemistry**, Leicestershire, v. 40, p. 2016-2020, 2008.

SANTOS, T.de F. S.; RIBEIRO, N. R.; POLIZEL, A. C.; MATOS, D. S. de; FAGUNDES, E. A. A. Controle de *Pratylenchus brachyurus* em esquema de rotação/sucessão com braquiária e estilosantes. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia: Centro Científico Conhecer. v.7, n.13. p. 252, 2011.

SHARMA, R. D.; MOREIRA, W. A.; ALVES, R. T. Efeito da bactéria *Pasteuria penetrans* em populações de Nematoides-das-galhas, *Meloidogyne arenaria*. Planaltina - Embrapa. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 79, 12p, 2003.

SOARES, P. L. M. **Estudo do controle biológico de fitonematóides com fungos nematófagos**. 2006. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2006.

VAN LOON, L. C. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. **European Journal of Plant Pathology**, Utrecht, v. 103, p. 753-765, 1997.

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

WITTER, L.; SANTOS, L.C.; ROCHA, M.R.; BARBOSA, K.A.G. Indução de Resistência no Manejo Integrado de *Pratylenchus brachyurus* na Cultura de Cana-de-açúcar. Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão- CONPEEX, **Anais...** 2013.

ZHANG, S.; GAN, Y.; XU, B. Biocontrol potential of a native species of *Trichoderma longibrachiatum* against *Meloidogyne incognita*. **Applied Soil Ecology**, Firenze, v. 94, p. 21-29, 2015.

## CAPÍTULO 1

Potencial do fungo *Trichoderma* spp., associado ou não a indutores de resistência, para o manejo de *Pratylenchus brachyurus* em soja



Potencial do fungo *Trichoderma* spp., associado ou não a indutores de resistência, para o manejo de *Pratylenchus brachyurus* em soja

**RESUMO**

*Trichoderma* spp. é um fungo com potencial para o controle de nematoides, mas ainda pouco pesquisado para o manejo do nematoide das lesões radiculares, *Pratylenchus brachyurus*. Assim, objetivou avaliar e selecionar a capacidade de isolados de *Trichoderma* spp. em controlar *P. brachyurus* em soja. O trabalho consistiu em diferentes experimentos cujo objetivo foi selecionar isolados, avaliar a possibilidade do uso dos isolados selecionados com indutores de resistência (acibenzolar-S-metil, Ecolife<sup>®</sup> e AgroMos<sup>®</sup>), avaliar se tais isolados reduzem a penetração nas plantas ou causa mortalidade, *in vitro*, do nematoide, e avaliar se os mesmos induzem resistência na cultura da soja. No experimento de seleção foram obtidos três isolados com bons resultados, GF422, GF425 e GF427, além destes, o isolado GF362 foi avaliado nos experimentos posteriores. Os quatro isolados selecionados foram eficientes em reduzir a penetração de *P. brachyurus* nas raízes de soja e promoveram mortalidade no nematoide *in vitro*. Quando utilizados em associação com indutores de resistência, os melhores resultados foram conferidos pelas combinações GF362+ASM, GF362+Ecolife<sup>®</sup>, GF362+AgroMos<sup>®</sup>, GF427+Ecolife<sup>®</sup>, GF427+AgroMos<sup>®</sup> e GF422+Ecolife<sup>®</sup>. Houve aumento na atividade de proteína total e catalase, especialmente nas avaliações de 72 horas. Em geral, os isolados diferiram entre si na produção destas proteínas e aqueles que apresentaram melhores resultados, não diferiram da testemunha inoculada.

**Palavras-chave:** Controle Biológico. Fungos nematófagos. *Glycine max*. Indução de resistência. Nematoide das lesões radiculares.

Potential of the fungus *Trichoderma* spp., associated or not a resistance inducers to *Pratylenchus brachyurus* management in soybean

**ABSTRACT**

*Trichoderma* spp. is a fungus with potential for nematode control, but still poorly researched for the management of root lesion nematode, *Pratylenchus brachyurus*. Thus, this research aimed to select and evaluate the capacity of *Trichoderma* spp. controlling *P. brachyurus* on soybean. The purposes were: to select isolated forms, to evaluate the possibility of using the selected form with resistance inducers (acibenzolar-S-methyl, Ecolife<sup>®</sup> and AgroMos<sup>®</sup>), to evaluate whether these isolated forms reduce penetration or cause mortality, *in vitro*, of the nematode, and evaluate whether they induce resistance in the soybean. In the selection experiment, three isolates with good results were obtained, GF422, GF425 and GF427, with the GF362 isolated being evaluated in the subsequent experiments. All the four isolates selected were efficient in reducing the penetration of *P. brachyurus* in the soybean root and promoted destruction of the nematode *in vitro*. When used in combination with resistance inducers, the best results were achieved by the combinations GF362+ASM, GF362+Ecolife<sup>®</sup>, GF362+AgroMos<sup>®</sup>, GF427+Ecolife<sup>®</sup>, GF427+AgroMos<sup>®</sup> and GF422+Ecolife<sup>®</sup>. There was an increase in total protein and catalase activity, especially in the 72-hour evaluations. In general, isolates differed in the production of these proteins and those with the best results did not differ from the inoculated control.

**Key words:** Biological control. Nematophagous fungi. *Glycine max*. Resistance induction. Root lesion nematodes.

## INTRODUÇÃO

A cultura da soja é uma das mais importantes para a economia do Brasil, devido ao alto valor socioeconômico, e apresenta capacidade de multiplicar a produção, tanto em área cultivada quanto em produtividade. Até 2020, a produção brasileira poderá assumir liderança mundial de grãos, podendo ultrapassar 100 milhões de toneladas (VENCATO, 2010). Conseqüentemente, a ampliação da cultura acarreta em aumento de problemas fitossanitários, sendo os nematoides um desses problemas.

Os nematoides parasitas de plantas, presentes em praticamente todas áreas cultivadas, são organismos que alteram e danificam o sistema radicular das plantas hospedeiras, dificultando a absorção e translocação de água e nutrientes e, portanto, ocasionando redução do desenvolvimento das raízes e do crescimento da planta.

Na cultura da soja, quatro nematoides merecem destaque, sendo eles *Meloidogyne* spp., *Heterodera glycines*, *Rotylenchulus reniformis* e *Pratylenchus brachyurus* (DIAS et al., 2010). Os nematoides do gênero *Meloidogyne* são endoparasitas sedentários, conhecidos principalmente por formar galhas nas raízes das plantas, que agem bloqueando parcialmente o sistema de absorção, causando sintomas em reboleiras, com plantas de porte reduzido e coloração amarelada, geralmente as folhas das plantas atacadas apresentam mancha clorótica (DIAS et al., 2010). *Heterodera glycines* é um semiendoparasita sedentário, caracterizado por formar cistos, constituídos de massas de ovos, muito resistentes a variações edafoclimáticas e facilmente levados a longas distâncias, principalmente pelo uso de maquinários agrícolas e caminhões que carregam solo contaminado (NOE, 2010). Causam sintomas caracterizados como plantas de porte reduzido e parte aérea clorótica, denominado “nanismo amarelo”, podendo também apresentar sintoma de deficiência nutricional de potássio e manganês. O nematoide reniforme, *Rotylenchulus reniformis*, tem sido comumente encontrado nas áreas em que se cultivou, ou se cultiva, algodoeiro, por ter esta planta como principal hospedeiro. Trata-se de um semiendoparasita sedentário, cuja principal característica do parasitismo é a desuniformidade nas áreas em que está presente, com frequente perdas de produção (DIAS et al., 2010). Vale ressaltar que esses três nematoides sedentários se caracterizam por formarem sítios de alimentação específicos, funcionalmente iguais, mas fisiologicamente diferentes, nos quais permanecem se alimentando durante todo o ciclo de vida.

*Pratylenchus brachyurus* é endoparasita migrador que, ao movimentar-se internamente nas raízes, promove o surgimento de áreas necrosadas e escuras, devido aos

danos às células do parênquima cortical, ocasionados pela movimentação e pela injeção de toxinas (GOULART, 2008). O cultivo consecutivo da soja no verão e soja ou milho na segunda safra é um dos principais fatores que elevaram a multiplicação deste nematoide e, em apenas uma no de cultivo sequencial de soja é suficiente para aumentar a população de *P. brachyurus* e reduzir a produtividade da soja na safra principal (RAMOS JUNIOR et al., 2015).

O manejo de fitonematoides na cultura da soja é realizado por controle químico com nematicidas em tratamento de sementes, rotação de culturas, para redução de inóculo inicial do solo, uso de cultivares resistentes, quando disponíveis, e outros métodos que visam diminuir a intensidade dos parasitas nas lavouras (INOMOTO, 2009). Contudo, nenhum método utilizado isoladamente confere resultados satisfatórios, especialmente sob altas populações de nematoides. Assim, outros métodos de controle, como cultural, biológico e físico devem ser adotados, visando construir para uma agricultura sustentável.

O controle biológico de nematoides de fungos nematófagos apresenta-se como uma opção para compor o sistema de manejo integrado. Tais fungos caracterizam-se pela capacidade de capturar, matar e digerir os fitonematoides e correspondem a três grupos: endoparasitas, predadores e parasitas de ovos (PADILHA; SAUMELL, 2000).

Há evidências de que isolados do fungo *Trichoderma* spp. podem agir de diferentes formas no manejo de nematoides e inúmeros trabalhos têm apontado o potencial do uso destes fungos para o controle eficiente de nematoses na agricultura. Na cultura da soja, em campo experimental, foi constatado que *Trichoderma harzianum* reduziu a população de *M. incognita* em relação a testemunha e melhorou a produção da soja (IZUOGU; ABIRI, 2015). A mesma espécie de fungo foi eficiente em reduzir os nematoides *P. brachyurus*, *M. incognita* e *M. javanica* na cultura do feijão, quando aplicado via tratamento de sementes (GONÇALVES JÚNIOR et al., 2013). Em mudas de café, o fungo erradicou 100% de *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* spp. e melhorou o desenvolvimento das plantas tratadas (PRATO et al., 2016). *Trichoderma virens* também mostrou potencial para uso como nematicida biológico por reduzir em 56,3% o número de galhas de *M. javanica* e aumentar em 56,1% a massa de raiz em tomate em casa de vegetação (MORADI et al., 2015).

Outra prática de manejo que vem sendo pesquisada para o controle de nematoides é o uso de indutores de resistência, cujo modo de ação consiste em ativar mecanismos de resistência que se encontram latentes na planta, os quais são desencadeados por agentes

bióticos ou abióticos (CAVALCANTI et al., 2005). A proteção sistêmica em plantas pode ser classificada como resistência sistêmica adquirida (RSA), ativada pela aplicação de produtos químicos, ou resistência sistêmica induzida (RSI), geralmente ativada por microrganismos benéficos, cujas rotas bioquímicas ativadas são distintas, mas o resultado fenotípico semelhante (PASCHOLATI; LEITE, 1995). Nos últimos anos, inúmeros trabalhos mostraram o potencial do uso desta estratégia, para o controle de nematoides (BARBOSA et al., 2010; LOBO et al., 2010; WITTER et al., 2013; PUERARI et al., 2015; BRITO et al., 2016).

Com base no exposto, o trabalho teve como objetivos gerais a) selecionar isolados de *Trichoderma* spp.; b) estudar a interação de *Trichoderma* com indutores de resistência na planta; c) observar, *in vitro*, a mortalidade de *P. brachyurus*, expostos a filtrados de *Trichoderma* spp.; d) avaliar a penetração do nematoide na raiz de soja tratada com o fungo e; e) avaliar a produção de enzimas de resistência em soja tratada com isolados de *Trichoderma* spp. e inoculada com o nematoide.

## MATERIAL E MÉTODOS

- a) Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. com potencial para o controle de *P. brachyurus* na soja

O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Faculdade Integrado de Campo Mourão, no período de julho de 2015 a março de 2016, em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos (isolados GF332, GF417, GF422, GF425 e GF427 de *Trichoderma* spp. e testemunha não tratada) e dez repetições. Os isolados, previamente multiplicados em arroz autoclavado e posteriormente triturado, foram aplicados via tratamento de sementes, na dose de 1 g do composto kg<sup>-1</sup> de sementes, sendo que cada grama de produto continha 1 x 10<sup>10</sup> esporos do fungo, sendo as sementes devidamente tratadas fornecidas pelo Grupo Farroupilha, de Patos de Minas, MG. Para a seleção dos melhores isolados de *Trichoderma* sementes de soja cv. NA 5909 sem tratamento foram depositadas em unidades experimentais contendo 800 mL de solo: areia (1: 1), previamente autoclavado a 120°C por duas e, após sete dias após a semeadura, cada planta foi inoculada com 450 espécimes de *P. brachyurus* obtidos de uma população pura, mantida em soja em casa de vegetação. A extração dos nematoides das raízes foi realizada a partir da metodologia proposta por Collen e D'Herde (1972). Decorridos trinta dias da inoculação, a parte aérea da

planta foi descartada, o solo levemente revolvido e cada unidade experimental recebeu uma semente de soja cv. NA 5909 previamente tratada com cinco diferentes isolados de *Trichoderma* spp. Cada tratamento constou de dez repetições e sementes sem tratamento com fungo foram utilizadas como testemunha.

Após sessenta dias da semeadura toda a planta foi coletada para avaliação. As raízes foram cuidadosamente lavadas, colocadas sobre papel toalha para retirar o excesso de água e pesada. Em seguida, foi submetida a extração de acordo com o método já citado. As amostras foram avaliadas sob microscópio de luz, em câmara de Peters, determinando-se o número total de nematoides, o qual foi dividido pela massa de raiz, obtendo-se o número de nematoides g<sup>-1</sup> de raiz. Além da massa de raiz, determinou-se a massa seca da parte aérea, a qual foi obtida após secagem da parte aérea em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C por 72 horas.

b) Associação entre *Trichoderma* spp. e indutores de resistência para o controle de *P. brachyurus*

O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Universidade Estadual de Maringá- *campus* Umuarama, no período de julho a novembro de 2016, em esquema fatorial 5 x 3, sendo cinco tratamentos de sementes (quatro isolados e uma testemunha sem tratamento) e três produtos com potencial para uso como indutores de resistência, com seis repetições para cada tratamento. A unidade experimental e o substrato utilizado foram semelhantes ao descrito no experimento anterior. Neste experimento, sementes de soja cv. NA 5909 inoculadas, separadamente, com as estirpes de *Trichoderma* spp. (GF422-*T. asperelloides*, GF425-*Trichoderma* spp., GF427-*T. koningiopsis* e GF362-*T. harzianum*, sendo os três primeiros selecionados na primeira avaliação e o último por alguns resultados observados em uma pesquisa paralela, ainda não divulgada), foram inoculadas com 400 espécimes de *P. brachyurus* no momento da semeadura. Os indutores de resistência foram aplicados via pulverização foliar, 15 e 22 dias após a emergência das plântulas. Os produtos consistiram em Ecolife<sup>®</sup> na dose de 1,7 mL L<sup>-1</sup>, AgroMos<sup>®</sup> na dose de 1,7 mL L<sup>-1</sup> e acibenzolar-S-metil (ASM, Bion 500<sup>®</sup>, Syngenta) na dose de 5 mL L<sup>-1</sup>.

Decorridos 50 dias da inoculação, as plantas foram coletadas e avaliadas conforme parâmetros descritos no experimento anterior. Contudo, neste experimento, determinou-se também a massa fresca da parte aérea.

c) Penetração de *P. brachyurus* em soja tratada com *Trichoderma* spp.

Para avaliar a penetração de nematoides, sementes de soja tratadas com os isolados GF422, GF425, GF 427 e GF362 e testemunha (sem tratamento) foram semeadas em tubetes contendo 170 mL do substrato (solo: areia) citado anteriormente, e inoculadas com 500 juvenis no orifício de semeadura. As avaliações foram realizadas aos 5, 10, 15 e 20 dias após inoculação (DAI). Em cada época de avaliação foram avaliadas cinco repetições de cada tratamento.

Para cada período de avaliação, as plantas foram cuidadosamente coletadas, separando-se parte aérea e raiz. As raízes foram cuidadosamente lavadas e submetidas à metodologia de coloração de nematoides com fucsina ácida proposta por Byrd et al. (1983). Em seguida, foram depositadas em placas de Petri com 25 cm de diâmetro, separando, cuidadosamente as raízes para que não houvesse sobreposições entre suas partes. As amostras foram avaliadas sob microscópio de luz, com aumento de 100 vezes, contando-se todos os espécimes no interior do sistema radicular.

d) Filtrados fúngicos de *Trichoderma* spp. na mortalidade de *P. brachyurus*

Neste experimento avaliou-se o efeito direto dos isolados GF422, GF425, GF427 e GF362 de *Trichoderma* sobre a mortalidade de *P. brachyurus*. Para isso, cada isolado do fungo foi desenvolvido em placa de Petri com 5 cm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA e mantido em BOD por sete dias, em temperatura de 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas. Posteriormente, foi preparada a suspensão fúngica em câmara de assepsia, usando materiais esterilizados em autoclave. Assim, em cada placa foram adicionados 8 mL de água destilada e, com o auxílio de uma borracha macia e com movimentos superficiais e suaves, realizado o desprendimento das hifas e esporos do meio de cultura. As placas foram deixadas em repouso por cinco minutos e, então, a suspensão foi filtrada em funil com três camadas sobrepostas de gaze, a fim de obter possíveis substâncias produzidas pelos fungos.

Em tubos de eppendorf, foram adicionados 1 mL do filtrado fúngico e 0,2 mL de suspensão com 200 nematoides. Estes foram incubados em BOD a 27 °C, no escuro. As avaliações foram realizadas 24 e 48 horas após a incubação, contando-se os nematoides vivos e mortos na suspensão. Para facilitar a identificação dos nematoides vivos, adicionou-se a

cada tubo, NaOH 1N a 10% do volume da solução, no momento exato da avaliação da amostra.

e) Produção de enzimas de resistência em soja tratada com isolados de *Trichoderma* spp.

Visando avaliar a indução de mecanismos bioquímicos de defesa na soja tratada com os isolados GF422, GF425, GF427 e GF362 de *Trichoderma* spp., foram realizadas análises bioquímicas de Proteínas totais, catalase e fenilalanina amônia liase (PAL). Para o experimento, sementes de soja cv. NA 5909 tratadas com os respectivos isolados foram cultivadas em tubetes, contendo 170 mL de uma mistura de solo: areia 1: 1. Como testemunhas foram utilizadas sementes não tratadas com *Trichoderma*, com e sem nematoide. No dia de semeadura as plantas foram inoculadas com 2 mL de uma suspensão com 400 espécimes de *P. brachyurus*. Decorridos 24, 48 e 72 horas da emergência foram coletadas seis amostras da parte aérea e da raiz de cada tratamento.

Tais amostras foram acondicionadas em envelope de papel alumínio e congeladas a -16 °C. Para análise, cada amostra foi pesada, macerada em N<sub>2</sub> líquido e homogeneizadas em almofariz com 4 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), 0,1 mM EDTA e 1% (p/p) de Poli-vinil-pirrolidona, e centrifugado durante 30 minutos a 15.000 rpm na temperatura de 4°C. O precipitado foi descartado e o sobrenadante acondicionado em microtubos e mantidos em congelador a -20°C, considerado como extrato enzimático utilizado para a determinação do conteúdo proteico e da atividade de PAL e catalase.

Para quantificação de proteínas, empregou-se o método de Bradford (1976), utilizando uma curva padrão de albumina sérica bovina. O extrato enzimático foi diluído ¼ em tampão de extração, sendo que a cada 10 µL da amostra foram acrescentados 40 µL de tampão e 2,5 mL do reagente de Bradford sob agitação. Após cinco minutos foi feita a leitura da absorbância a 595 nm em espectrofotômetro.

A atividade da PAL foi determinada de acordo com Mori, Sakurai e Sakuta (2001), para a qual foi pipetado 100 µL do extrato enzimático para tubos de ensaio, acrescentado 400 µL de solução tampão TRIS-EDTA (0,5M, pH 8,0), e 500 µL de solução de fenilalanina. A mistura foi incubada em banho-maria a 40°C, por 1 hora. A prova em “branco” foi preparada usando-se água destilada no lugar da fenilalanina para cada tratamento. As análises foram realizadas em duplicata. Após a incubação, os tubos foram transferidos imediatamente para



banho de gelo, com o objetivo de encerrar a reação, acrescentado 60 µL de tampão HCl em cada tubo. As leituras espectrofotométricas foram realizadas a 290 nm e os resultados foram expressos em termos de UA por mg de proteína.

A atividade da enzima catalase foi verificada pelo método de Góth (1991) modificado por Tamanková et al. (2006), para o qual uma alíquota de 100 µL do extrato de cada planta foi incubada em 500 µL de mistura de substrato preparado com 60 mM de peróxido de hidrogênio em tampão catalase, a 37 °C durante 4 min. Após este período, adicionou-se 500 µL de molibdato de amônio e levado a banho de gelo. Um branco para cada amostra foi preparado com a adição de molibdato de amônio à mistura de reação, omitindo o período de incubação. As leituras espectrofotométricas foram realizadas a 595 nm.

#### f) Análise estatística dos dados

Em cada experimento, os dados obtidos foram testados quanto à normalidade (teste de Shapiro Wilk) de variância e, de acordo com a necessidade, foi realizada transformação pela  $\sqrt{(x+0,5)}$ . Para os experimentos de seleção de isolados e produção de enzimas de resistência, as médias comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. Nos demais experimentos, as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas usando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2008).

## RESULTADOS

#### a) Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. com potencial para o controle de *P. brachyurus* na soja

Os resultados da seleção mostraram que houve redução do número de nematoides total e nematoides por grama de raiz, quando utilizados os tratamentos com isolados GF425, GF427 e GF422, se comparado com a testemunha e com os demais isolados, GF332 e GF417 (Tabela 1). Os tratamentos com os isolados GF422, GF425 e GF427 promoveram aumento na massa seca da parte aérea, enquanto GF425 e GF427 na massa fresca de raiz (Tabela 1).

**Tabela 1.** Número de nematoides total, nematoide por grama de raiz, massa seca de parte aérea seca e massa de fresca de raiz de soja inoculada com *Pratylenchus brachyurus* e tratada com estirpes de *Trichoderma* spp.

Tratamento	Nematoide	Nematoides g <sup>-1</sup>	Massa Seca	Massa fresca
	Total*	raiz*	Parte Aérea	de Raiz
Testemunha	300 b	132 b	3,63 b	2,29 b
GF332	374 b	147 b	3,22 b	2,37 b
GF417	282 b	106 b	3,62 b	2,63 b
GF422	157 a	56 a	4,51 a	2,69 b
GF425	148 a	52 a	4,23 a	2,97 a
GF427	141 a	41 a	4,31 a	3,44 a
CV(%)	21,56	20,38	23,72	23,08

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

\*Para os dados nematológicos, os dados originais foram transformados por  $\sqrt{(x+0,5)}$ . CV= coeficiente de variação.

b) Associação entre *Trichoderma* spp. e indutores de resistência para o controle de *P. brachyurus*

Houve interação significativa entre os fatores isolados de *Trichoderma* spp. x indutores de resistência, para o número de nematoides g<sup>-1</sup> de raiz, e observou-se que todos os tratamentos com indutor promoveram controle do nematoide nas plantas que não receberam aplicação de isolados de *Trichoderma* spp., bem como todos os isolados controlaram o nematoide nas plantas que não receberam tratamento com indutor (Tabela 2). Para o isolado GF422, o melhor controle foi obtido com a aplicação de Ecolife<sup>®</sup>, seguido do ASM, enquanto a associação com AgroMos<sup>®</sup> aumentou a população do nematoide. Para o isolado GF425 nenhuma associação com indutor reduziu o número de nematoides se comparado à testemunha. Por outro lado, quando se usou GF427 houve redução significativa para as combinações com Ecolife<sup>®</sup> e AgroMos<sup>®</sup>, enquanto para GF362, todas as associações com indutores foram eficientes em controlar o nematoide se comparada a testemunha que não recebeu indutor de resistência (Tabela 2). Na análise dos isolados dentro dos indutores, observou-se que os mesmos não diferiram da testemunha na presença de ASM e Ecolife<sup>®</sup>, mas os isolados GF425, GF427 e GF362 tiveram sua eficiência aumentada pela aplicação de AgroMos<sup>®</sup> (Tabela 2).

**Tabela 2.** Número de nematoides g<sup>-1</sup> de raiz de soja submetida a diferentes tratamentos com isolados de *Trichoderma* spp. e indutores de resistência.

Tratamentos	Sem indutor	ASM	Ecolife <sup>®</sup>	AgroMos <sup>®</sup>
Testemunha	2077 Aa	708 ABc	645 Ac	1433 Ab
GF422	907 Bb	675 ABbc	329 Ac	1486 Aa
GF425	893 Bab	1270 Aa	515 Ab	498 Bb
GF427	1073 Ba	763 ABab	446 Ab	284 Bb
GF362	911 Ba	473 Bb	450 Ab	291 Bb
CV		29,32		

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Médias originais transformadas por  $\sqrt{(x+0,5)}$  para análise estatística. CV= coeficiente de variação.

Os isolados de *Trichoderma* spp. não promoveram alterações nos parâmetros vegetativos avaliados, bem como a interação entre os isolados de *Trichoderma* e a aplicação de indutores. Por outro lado, a aplicação de indutor influenciou a massa fresca da parte aérea e da raiz (Tabela 3).

**Tabela 3.** Massa fresca e seca de parte aérea (PA) e massa fresca de raiz de soja submetida a diferentes tratamentos com isolados de *Trichoderma* spp. e indutores de resistência.

Tratamentos	Massa fresca PA (g)	Massa seca PA (g)	Massa de raiz (g)
<b>Isolados de <i>Trichoderma</i> spp.</b>			
Testemunha	1,56 <sup>ns</sup>	0,38 <sup>ns</sup>	0,78 <sup>ns</sup>
GF422	1,49	0,35	0,83
GF425	1,44	0,37	0,76
GF427	1,78	0,42	1,01
GF362	1,67	0,39	1,01
DMS	0,72	0,13	0,42
<b>Indutores de Resistência</b>			
Testemunha	1,15 a	0,33 <sup>ns</sup>	0,61 a
ASM	1,60 ab	0,40	0,89 ab
AgroMos <sup>®</sup>	1,76 ab	0,40	1,02 b
Ecolife <sup>®</sup>	1,83 b	0,43	0,99 b
DMS	0,60	0,12	0,35
CV (%)	19,40	12,38	23,52

ns= não significativo. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. CV=coeficiente de variação.

Observou-se que o Ecolife<sup>®</sup> aumentou ambos os parâmetros se comparado à testemunha, enquanto AgroMos<sup>®</sup> também promoveu aumento na massa fresca de raiz. Os isolados, em relação aos indutores, não diferiram da testemunha na presença de ASM e Ecolife<sup>®</sup>, mas os isolados GF425, GF427 e GF362 tiveram sua eficiência aumentada pela aplicação de AgroMos<sup>®</sup> (Tabela 3).

c) Filtrados fúngicos de *Trichoderma* spp. na mortalidade de *P. brachyurus*

Os resultados de mortalidade de *P. brachyurus*, demonstram que houve aumento significativo na porcentagem de nematoides mortos quando expostos aos extratos fúngicos se comparados com a testemunha, em ambas as épocas de avaliação. Os isolados não diferiram entre si quanto à mortalidade de *P. brachyurus* (Tabela 4). Vale ressaltar que não foi observado crescimento de hifas do fungo nas amostras avaliadas.

**Tabela 4.** Mortalidade de *Pratylenchus brachyurus* expostos a filtrados fúngicos obtidos de isolados de *Trichoderma* spp., 24 e 48 horas após incubação.

Tratamento	Mortalidade 24h	Mortalidade 48h
Testemunha	81,17 a	88,41 a
GF362	94,49 b	98,59 b
GF422	93,62 b	96,65 b
GF425	93,61 b	98,07 b
GF427	96,48 b	99,38 b
CV (%)	3,24	1,71

ns= não significativo. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. CV=coeficiente de variação.

d) Penetração de *P. brachyurus* em soja tratada com *Trichoderma* spp.

Aos 5 DAI (dias após inoculação) os isolados GF422, GF425 e GF427 reduziram a penetração do nematoide no sistema radicular da soja, enquanto aos 10 DAI, menor penetração foi observada para os isolados GF362 e GF425. Na avaliação realizada aos 15 DAI foram observados redução na penetração para todos os isolados, não diferindo da testemunha, exceto para o isolado GF362. Por outro lado, aos 20 DAI, os isolados GF362 e GF427

demonstraram redução na penetração. Quando se avaliou o total de nematoides, todos os isolados diminuíram a penetração de *P. brachyurus* na raiz de soja se comparadas com a testemunha não tratada (Tabela 5).

**Tabela 5.** Penetração de *Pratylenchus brachyurus* em raízes de soja tratadas com diferentes isolados de *Trichoderma* spp., sob tratamento de sementes e inoculadas com 400 nematoides, aos 5, 10, 15 e 20 dias após a inoculação (DAI).

Tratamento	5 DAI	10 DAI	15 DAI	20 DAI	Total
Testemunha	9 a	29 a	40 b	85 a	163 a
GF362	5 ab	13 b	63 a	21 c	100 b
GF422	2 b	26 ab	38 b	51 bc	117 b
GF425	2 b	15 b	30 b	74 ab	121 b
GF427	1 b	31 a	44 b	27 c	103 b
CV (%)	42,67	39,45	28,33	25,67	19,65

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Médias originais transformadas por  $\sqrt{(x+0,5)}$  para análise estatística. CV = coeficiente de variação.

e) Produção de enzimas de resistência em soja tratada com isolados de *Trichoderma* spp.

Observou-se que 24 e 48 horas após a emergência, nenhum isolado promoveu aumento de proteínas totais na parte aérea quanto comparados com ambas as testemunhas. Na análise de 72 horas, apesar dos isolados GF425, GF427 e GF362 promoverem aumento de proteínas totais se comparados à testemunha absoluta (sem nematoide e sem *Trichoderma*), não diferiram da testemunha com nematoide (Figura 1A).

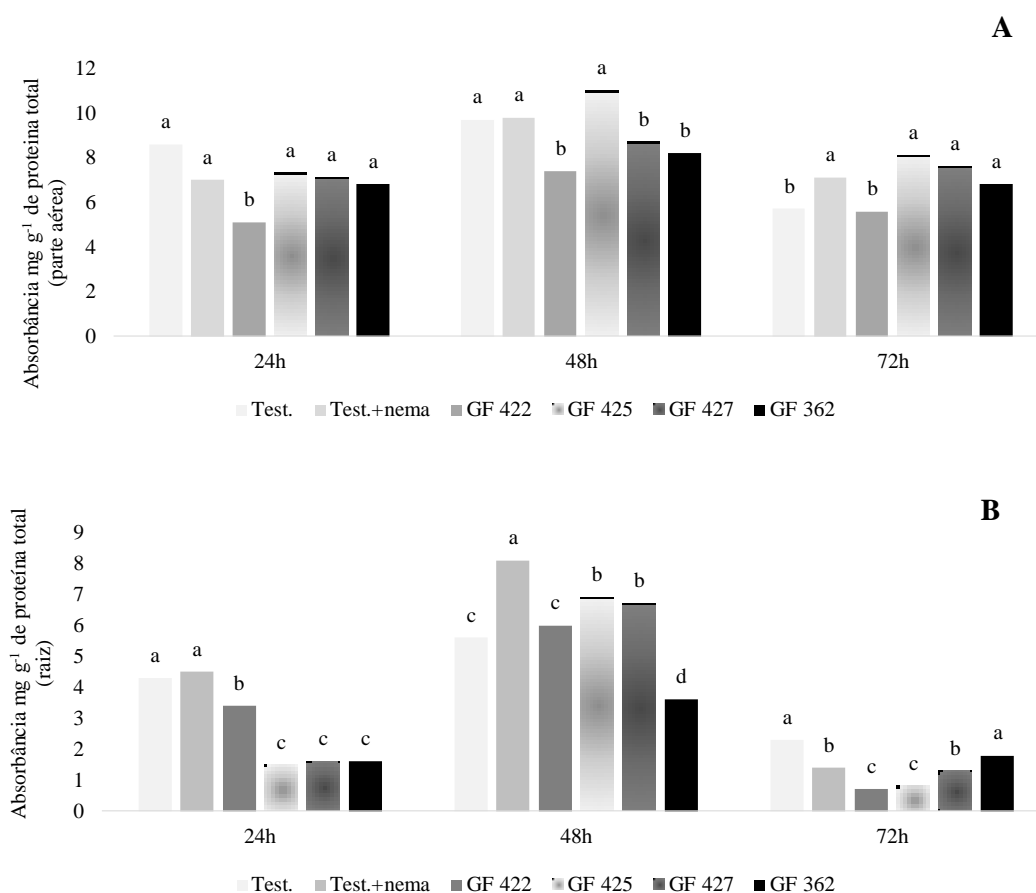


Figura 1. Absorbância ( $\text{mg g}^{-1}$ ) de proteína total da parte aérea (A) e raiz (B) de soja, após 24, 48 e 72 horas de emergência, submetida a diferentes tratamentos com isolados de *Trichoderma* spp. Test. = testemunha absoluta (sem *Trichoderma* e sem nematoide) e Test.+nema= testemunha inoculada com nematoide.

Para raízes, os isolados também não diferiram das testemunhas após 24 horas de emergência. Com 48 horas, maior absorbância foi observada para a testemunha com nematoide, seguida dos isolados GF425 e GF427. Os demais isolados não diferiram ou apresentaram valores inferiores à testemunha absoluta. Após 72 horas, o isolado GF362 apresentou valor superior à testemunha com nematoide, contudo não diferiu da testemunha absoluta (Figura 1B). Em geral, o isolado GF422 apresentou menor produção de proteína total, tanto na parte aérea, quanto na raiz.

Os tratamentos não diferiram entre si para a atividade da PAL, independente da parte da planta avaliada ou da época de avaliação (Figuras 2A, 2B).

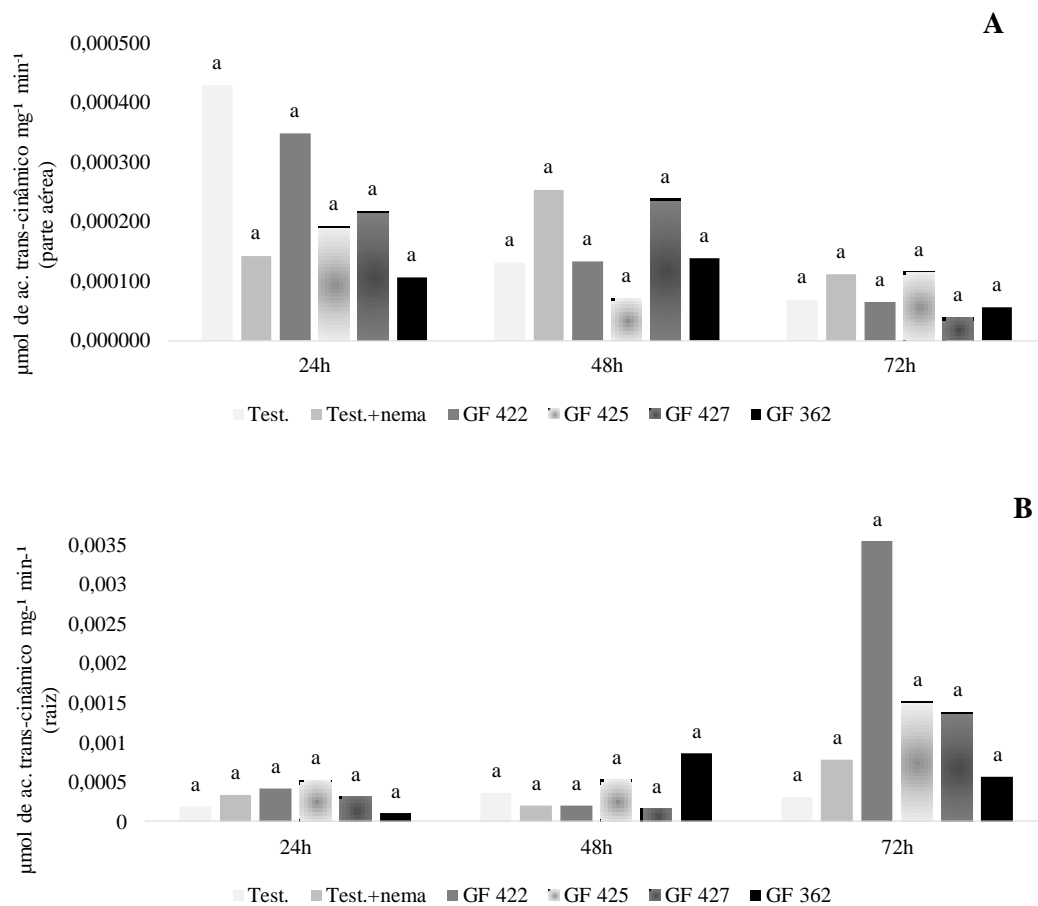


Figura 2. Atividade da fenilalanina amônia liase (PAL em  $\mu\text{mol}$  de ácido trans-cimânico por mg de proteína por minuto) na parte aérea (A) e raiz (B) de soja, após 24, 48 e 72 horas de emergência, submetida a diferentes tratamentos com isolados de *Trichoderma* spp. Test. = testemunha absoluta (sem *Trichoderma* e sem nematoide) e Test.+nema= testemunha inoculada com nematoide.

Para a enzima catalase, na avaliação de 24 horas em parte aérea, menor atividade foi verificada para a testemunha com nematoide e para o isolado GF427. Os isolados GF422, GF425 e GF362 apresentaram valores superiores a testemunha com nematoide, mas inferior a testemunha absoluta, a qual mostrou maior atividade neste período de avaliação (Figura 3A). Às 48 horas, não houve diferença entre os tratamentos, enquanto às 72 horas observou-se que os isolados GF362, GF425 e GF427, bem como a testemunha com nematoide, apresentaram valores superiores ao isolado GF422 e a testemunha absoluta (Figura 3A).

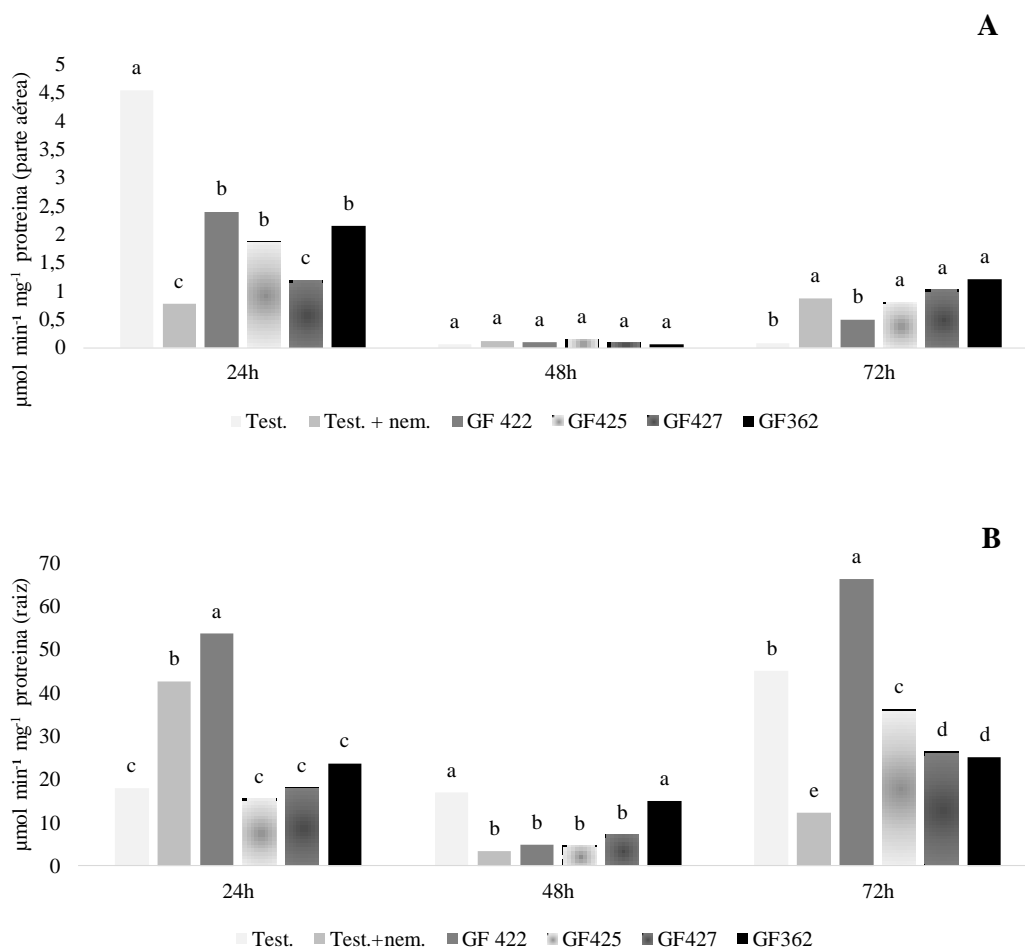


Figura 3. Atividade catalase ( $\mu\text{mol}$  de peróxido de hidrogênio por  $\text{mg}$  de proteína por minuto) na parte aérea (A) e raiz (B) de soja, após 24, 48 e 72 horas de emergência, submetida a diferentes tratamentos com isolados de *Trichoderma* spp. Test. = testemunha absoluta (sem *Trichoderma* e sem nematoide) e Test.+nema= testemunha inoculada com nematoide.

A análise das raízes nas amostras com 24 horas demonstrou que a maior atividade para catalase foi conferida pelo isolado GF422, seguido da testemunha com nematoide, sendo que os demais tratamentos apresentaram atividade inferior e não diferiram entre si (Tabela 3B). Na avaliação de 48 horas, o isolado GF362 foi estatisticamente igual a testemunha absoluta, os quais apresentaram atividade superior aos demais tratamentos. No entanto, a análise realizada após 72 horas de emergência, confirmou o aumento da atividade da catalase promovida pelo isolado GF422, o qual foi superior a todos os outros tratamentos.



## DISCUSSÃO

No presente estudo, foi possível constatar a eficiência diferenciada dos isolados de *Trichoderma* para o controle de *P. brachyurus*. Assim, na seleção de isolados, dois deles foram descartados do trabalho, por não promover o controle do nematoide nas condições em que o experimento foi realizado. Por outro lado, redução do número de nematoide total e por grama de raiz foi obtida para o tratamento de sementes de soja com os isolados GF422, GF425 e GF427. A atividade variável de isolados de *Trichoderma* tem sido demonstrada em outros trabalhos (SHARON et al., 2007; BAHARULLAH KHATTAK et al., 2008; AFFOKPON et al., 2011), indicando a importância de seleção prévia de estirpes com potencial para o controle biológico. A eficiência dos isolados do fungo em controlar nematoides corroboram Bortolini et al. (2013), que observaram que o tratamento de sementes de soja com isolados de *T. viride* promoveu o controle de *P. brachyurus*. Além deste, há vários trabalhos com isolados de *Trichoderma* spp., que mostraram o potencial do fungo para o controle de nematoides em várias culturas (SANTIN, 2008; MUKHTAR et al., 2013; GIEHL et al., 2015).

No controle biológico de nematoides é importante conhecer o modo de ação do antagonista utilizado, a fim de facilitar o manejo usando-o isoladamente ou em associação com outras técnicas de controle. Os fungos do gênero *Trichoderma* apresentam diferentes mecanismos capazes de controlar nematoide, incluindo a produção de enzimas, como quitinases, glucanases, lipases e protease, relacionadas ao parasitismo direto de ovos e juvenis de nematoides (HARMAN et al., 2000; SPIEGEL et al., 2005; SHARON et al., 2001); podem alterar os exsudatos radiculares, inibindo a eclosão de juvenis por falta de estímulos advindos de tais exsudatos (HARMAN et al., 2000); produzem antibióticos voláteis ou não voláteis, com ação direta sobre o nematoide e, por último, podem induzir resistência em plantas (HARMAN et al., 2000; SHARON et al., 2001).

No presente estudo, foi constatada a redução na penetração do sistema radicular pelo nematoide em soja tratada com os diferentes isolados, resultado que pode ter sido conferido por todas as estratégias de ação citadas, atuando conjuntamente ou isoladas. Já foi constatado que a produção de toxinas e modificações dos exsudatos radiculares, podem reduzir a eclosão de juvenis, alterar a atração e o reconhecimento do hospedeiro pelo juvenil de segundo estágio (OOSTENDORP; SIKORA, 1990). Além disso, trabalhos anteriores demonstraram que o

fungo *Trichoderma* tem a capacidade de colonizar as raízes, incluindo os sítios de penetração do nematoide, reduzindo o sucesso do fitoparasita em infectar o sistema radicular (SHARON et al., 2007).

Os isolados também foram eficientes em promover a mortalidade dos nematoides, o que pode ser conferido à produção de compostos químicos nematicidas, uma vez que não havia presença de hifas parasitando diretamente os nematoides no momento da avaliação. De fato, a antibiose e o hiperparasitismo direto, com produção de substâncias tóxicas, compostas principalmente de proteases e quitinases, são os principais métodos de ação deste fungo contra nematoides (SZABÓ et al., 2012). A mortalidade de nematoides expostos a filtrados de *Trichoderma* spp. foi anteriormente observada para *M. incognita*, *M. javanica* e *Radopholus similis*, com efeito nematicida causando até 100% de mortalidade (HERNANDÉZ, 2003; SHARON et al., 2007; FREITAS et al., 2012). Apesar de no presente estudo não ter sido constatada presença de hifas parasitando o nematoide, isolados de *Trichoderma* possuem esta capacidade, e o fenômeno ocorre pela ramificação e enrolamento das hifas ao corpo do nematoide (SHARON et al., 2007).

Foi interessante observar que, no trabalho utilizando indutores de resistência, todos isolados foram eficientes em controlar o nematoide quando não estavam associados aos indutores, mas aplicados em associação, as respostas foram variáveis e, nem sempre, como controle efetivo. Assim, apenas o isolado GF362 apresentou melhor controle do nematoide quando aplicado com todos os indutores. O isolado GF427 foi mais eficiente na presença de Ecolife® e AgroMos®, enquanto GF422 apenas na associação com Ecolife®. O Ecolife® é um produto composto por biomassa cítrica, que pode promover a produção fitoalexinas (MOTOYAMA et al., 2003), cuja eficiência para o controle de nematoides foi comprovada em outras pesquisas (GUIMARÃES et al., 2007; BARBOSA et al., 2010; PUERARI et al., 2013), inclusive para o manejo de *P. brachyurus* (PUERARI et al., 2015). AgroMos®, por sua vez, não tem sido pesquisado para o controle de nematoides, no entanto, tem mostrado bons resultados no controle de alguns fungos, via indução de resistência (COSTA et al., 2010). Apesar de todos os indutores reduzirem a reprodução do nematoide quando aplicados independentes do fungo, algumas associações entre ambos foram desfavoráveis ao controle, inclusive, aparentemente, predispondo a planta ao ataque do nematoide, resultando em maior reprodução. É sabido que o processo de indução de resistência tem um gasto energético elevado para a planta (DIETRICH et al., 2005). Assim, uma hipótese para explicar tal

resultado é que, em algumas associações, o estresse inicial apresentado pela indução pelo fungo somada a indução pelo produto químico, tenha sido elevado, tornando-a mais suscetível à infecção inicial pelo nematoide.

Além do controle do nematoide, alguns isolados promoveram aumento da massa seca da parte aérea e massa de raiz no experimento de seleção, especialmente o GF427 e GF425. De fato, o uso de *Trichoderma* spp. tem mostrado eficiente em aumentar altura, massa de parte aérea e desenvolvimento de raiz de diferentes culturas, na presença de nematoides (FREITAS et al., 2012; GIEHL et al., 2015; VARGAS et al., 2015; BAGGIO et al., 2016). Tal resultado pode ser conferido ao controle direto do nematoide, reduzindo o estresse da planta pelo parasitismo. Por outro lado, o fungo pode favorecer a tolerância da planta ao estresse ambiental, aumentando o volume do sistema radicular, melhorando a absorção de água e nutrientes, e atuando como bioestimulante (HARMAN, 2000). Além disto, a produção de hormônios ou fatores de crescimento estimulados pelo fungo (FERREIRA; FERRAZ, 2008), podem promover aumento dos parâmetros vegetativos, visto que o melhor desempenho vegetativo tem sido contatado em outros patossistemas envolvendo diferentes hospedeiros e nematoides, pelo controle biológico usando *Trichoderma* (FREITAS et al., 2012; GIEHL et al., 2015; VARGAS et al., 2015; BAGGIO et al., 2016).

Foram observados efeitos dos tratamentos aplicados para proteína total e catalase. A resposta para proteína total veio após 72 horas da emergência e os isolados, que promoveram maior produção, não diferiram da testemunha com nematoide. Sabe-se que plantas respondem a invasão de fitonematoides com a ativação de mecanismos de defesa, podendo estimular a produção de fitoalexinas, ocasionar o acúmulo de compostos fenólicos e ativar a enzima fenilalanina amônia-liase (AGRIOS et al., 2005; CAVALCANTI et al., 2005). Assim, o aumento na síntese de proteínas pode estar relacionado à patogênese por infecções, além de estresse por agentes químicos ou ambientais (MACAGNAN et al., 2008).

No presente estudo, não foi observada alteração na atividade da PAL, enzima que atua na produção de compostos como lignina e fitoalexinas, sendo esta última uma das principais causas de resistência em plantas (ALMEIDA et al., 2012). Alguns estudos mostraram que a colonização das raízes por *Trichoderma* pode causar o aumento nos níveis de enzimas relacionadas à defesa de plantas, incluindo a PAL, além de peroxidases, quitinases,  $\beta$ -1,3-glucanases e hidróperóxido (HOWELL et al., 2000; BAYSAL et al., 2003; YEDIDIA et al., 2003). O tempo necessário para ativação dos mecanismos de defesa é muito

importante e, apesar da soja apresentar emergência relativamente rápida, a avaliação em até 72 horas pode não ter sido suficiente para o fungo colonizar o sistema radicular e, conseqüentemente, ativar tais mecanismos.

Nesse experimento, a atividade da catalase em amostras tratadas com alguns isolados de *Trichoderma* spp., com a ação do nematoide, exibiu aumentos significativos após 72 horas, sugerindo que a reação da planta foi de estimular a produção de tal enzima em contato com o fungo. O aumento na atividade da catalase por organismos benéficos foi também observada em associações envolvendo micorrizas (RUIZ, 1998), no entanto, a enzima também é ativada sob estresse abiótico (CAMPOS et al., 2004) e a proteção de plantas pela produção de tal composto foi anteriormente observada para o parasitismo por *M. incognita* (SOUZA et al., 2015).

Os resultados obtidos para indução de resistência ainda são pouco conclusivos, mas em trabalhos com *Trichoderma* x nematoides é interessante prolongar o período de coleta e avaliações das amostras, a fim de possibilitar tempo hábil para o fungo colonizar o sistema radicular e ativar os possíveis sistemas de defesa nas plantas.

## CONCLUSÕES

Na avaliação de seleção, os isolados GF422, GF425 e GF427 de *Trichoderma* apresentaram os melhores resultados. Além destes, o isolado GF362, incluído na pesquisa, foram eficientes em reduzir a penetração e promover a mortalidade de *P. brachyurus*.

Quando utilizados em associação com indutores de resistência, os melhores resultados foram conferidos pelas combinações GF362+ASM, GF362+Ecolife<sup>®</sup>, GF362+AgroMos<sup>®</sup>, GF427+Ecolife<sup>®</sup>, GF427+AgroMos<sup>®</sup> e GF422+Ecolife<sup>®</sup>.

Quanto à indução de resistência, houve aumento na atividade de proteína total de catalase, especialmente nas avaliações de 72 horas. Contudo, praticamente os isolados não diferiram da testemunha inoculada.

## REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5 ed. Amsterdam: Elsevier Academic, p.922. 2005.
- AFFOKPON, A.; COYNE, D. L.; HTAY, C. C.; AGBÈDÈ, R. D.; LAWOUIN, L.; COOSEMANS, J. Biocontrol potential of native *Trichoderma* isolates against root-knot nematodes in West African vegetable production systems. **Soil Biology and Biochemistry**, Firenze, v. 43, n. 3, p. 600-608, 2011.
- ALMEIDA, H. O.; BARBOSA, M. O.; MARQUES, A. E.; PEREIRA, T. H. A.; MAGALHÃES JUNIOR, 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. 27, n. 2, p. 163-172, 2012.
- BAGGIO, L. G.; RUFFATO, S.; BONALDO, S. M. Nematicida biológico, fungicidas e inseticidas aplicados via semente, no desempenho da cultura da soja no Norte de Mato Grosso. **Scientific Eletronic Archives**, Sinope, v. 2, n. 9, p. 01-09, 2016.
- BAHARULLAH KHATTAK, S.; STEPHEN, M. Effect of some indigenous isolates of *Trichoderma harzianum* on root knot nematode, *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. **Sarhad Journal of Agriculture**. Peshawar, v. 24, n. 2, p. 285-288, 2008.
- BARBOSA, L. F.; AMORIM, E. P. R.; COSTA, V. K. S.; SILVA, J. C. da.; ALENCAR, L. M. C.; SILVA, C. J. Uso de produtos alternativos no controle de nematoides na cultura do inhame (*Dioscorea* sp.). **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, Botucatu, v. 6, p. 241-247, 2010.
- BAYSAL, O.; SOYLU, E.M.; SOYLU, S. Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. **Plant Pathology**, St. Paul, v.52, p.747-753, 2003.
- BORTOLINI, G. L.; ARAÚJO, D. V. de.; ZAVISLAK, F. D.; ROMANO JUNIOR, J.; KRAUSE, W. CONTROLE DE *Pratylenchus brachyurus* via tratamento de semente de soja. **Enciclopédia Biosfera**, Goiania, v. 9, n.17, p. 818-830, 2013.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Bethesda, v. 72, p. 248-254, 1976.
- BRITO, O. D. C.; PUERARI, H. H.; HERNANDES, I.; FERREIRA, J. C. A.; CARDOSO, M. R.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Métodos de aplicação e concentrações de acibenzolar-S-metil no manejo de *M. javanica* em soja. **Nematropica**, Auburn, v. 46, p. 106-113, 2016.

BYRD, Jr., D. W.; KIRPATRICK, J.; BARKER, K. R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, St. Paul, v.15, p.142-143, 1983.

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

CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STANGARLIN, J. R. Aspectos Bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed). **Indução de Resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, p. 81-124, 2005.

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

COSTA, J. C. B.; RESENDE, M. L. V.; RIBEIRO JUNIOR, P. M.; CAMILO, F. R.; MONTEIRO, A. C. A.; PEREIRA, B. R. Indução de resistência em mudas de cacaueteiro contra *Moniliophthora perniciosa* por produto à base de mananoligossacarídeo fosforilado. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, n. 5, p.285-294, 2010.

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

DIETRICH, R.; PLOSS, K.; HEIL, E M. Growth responses and fitness cost after induction of pathogen resistance depend on environmental condition. **Plant, Cell and Environment**, Jena, v. 28, p. 211-222, 2005.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Londrina, v. 6, p. 36-41, 2008.

FERREIRA, P. A.; FERRAZ, S. Parasitismo de ovos de *Meloidogyne exigua* por fungos nematófagos e estudo da compatibilidade entre os isolados fúngicos. **Revista Trópica-Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 2, n. 3, 15-21, 2008.

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

GIEHL, J.; REINIGER, L. R. S.; FRUET, S. F. T.; SILVA, B. R.; MIRANDA, F. Efeito de *Trichoderma spp.* no cultivo de feijoeiro comum em condições de campo sob estresse por nematoides. **Cadernos de Agroecologia**, v. 10, n. 3, p. 01-05, 2015.

GONÇALVES JÚNIOR, D. B.; ROLDI, M.; NAMUR, F. M.; MACHADO, A. C. Z. Tratamento de sementes de feijoeiro no controle de *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 37, p. 53-56, 2013.

GÓTH, L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. **Clinica Chimica Acta**, Gent, v. 196, n. 2-3, p. 143-151, 1991.

GOULART, A. M. C. Aspectos Gerais sobre Nematoides das Lesões radiculares (Gênero *Pratylenchus*). **Embrapa Cerrados**. Planaltina-DF. 2008.

GUIMARÃES, L. M. P. **Eficiência de indutores no manejo integrado de *Meloidogyne spp.* e *Pratylenchus zae* em cana-de-açúcar**. 2007. 114 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2007.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol – Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, Iowa, v. 84, p. 377-392, 2000.

HERNÁNDEZ, A. M. **Utilización de hongos endofíticos provenientes de banano orgánico para el control biológico del nemátodo barrenador *Radopholus similis* Cobb, Thorne**. 67f. Tese (Mestrado) Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica, 2003.

HOWELL, C. R.; HANSON, L. E.; STIPANOVIC, R. D.; PUCKHABER, L. S. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. **Phytopathology**, Palo Alto, v. 90, p. 248–252, 2000.

INOMOTO, M. M. Importância do manejo de *Pratylenchus brachyurus*, como manejar nematoides em soja. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, v. 108, p. 4-9, 2009.

IZUOGU, N. B.; ABIRI, T.O. Efficacy of *Trichoderma harzianum*T22 as a biocontrol agent against root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on some soybean varieties. **Croatian Journal of Food Science and Technology**, Osijek, v. 7, p. 47-51, n. 2, 2015.

LÔBO, L. M.; ROCHA, M. R.; SANTOS, L. C.; BARBOSA, K. A. G.; ALVES, T. G.; TEIXEIRA, R. A.; ARAÚJO, F. G. Efeito de Indutor de resistência sobre a densidade populacional de *Pratylenchus brachyurus* em cana-de-açúcar. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO, 7, 2010, Goiânia, GO. **Anais...Goiânia: 2010**, p. 1-9.

MACAGNAN, D.; ROMEIRO, R. S.; BARACAT-PEREIRA, M. C.; LANNA-FILHO, R.; BATISTA, G. S.; POMELLA, A. W. V. Atividade de enzimas associadas ao estado de indução em mudas de cacauete expostas a dois actinomicetos residentes de filoplano. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, p. 34-37, 2008.

MORADI, R.; MORADI, F.; MIREHKI, K.; ABDOLLAHI, M. Plant debris of oak forest as soil amendment, to improve the biocontrol activity of *Pseudomonas fluorescens* and *Trichoderma virens* against *Meloidogyne javanica*, in tomato. **Crop Protection**, Bari, v. 4, n. 3, p. 373-384, 2015.

MORI, T.; SAKURAI, M.; SAKUTA, M. Effects of conditioned médium on activities of PAL, CHS, DAHP synthase (DS-Co and DS-Mn) and anthocyanin production in suspension cultures of *Fragaria ananassa*. **Plant Science**, California, v. 160, n. 2, p. 355-360, 2001.

MUKHTAR, I., HANNAN, A., ATIQ, M., NAWAZ, A. Impact of *Trichoderma* species on seed germination in soybean. **Pakistan Journal of Phytopathology**, Faisalabad, v. 24, p. 159-162, 2012.

NOE, J. P. Nematoides Parasitas de Plantas. In: TRIGIANO, R. N.; WINDHAM, M. T.; WINDHAM, A. S. **Fitopatologia: Conceitos e Exercícios de Laboratório**. Porto Alegre: Artmed. pp. 83-96, 2010.

MOTOYAMA, M. M.; SCHWAN, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; FIORI-TUTIDA, A. C. G.; SCAPIM, C. A. Indução de fitoalexinas em soja e em sorgo e efeito fungitóxico de extratos cítricos sobre *Colletotrichum lagenarium* e *Fusarium semitectum*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 25, p. 491-496, 2003.

OOSTENDORP, M.; SIKORA, R. A. In vitro interrelationships between rhizosphere bacteria and *Heterodera schachtii*. **Revue de Nématologie**, Paris, v. 14, p. 269-274, 1990.

PADILHA, T.; SAMUELL, C. A. Fungos nematófagos na redução da disponibilidade de larvas infectantes de nematóides trichostrongilídeos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Eds.). **Controle Biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, pp.25-47. 2000.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. Ed. São Paulo: Agronômica Ceres, p.417-453, 1995.

PRATO, S. S. S.; RODRIGUEZ, M.; LUIS, M. L. S.; PENÃ, A. S.; SANTANA, I. A. R. Efectividad de *Trichoderma harzianum* sobre la población de nemátodos fitopatógenos en café (*Coffea arabica* L.) En condiciones de vivero en el municipio Junín, estado Táchira, Venezuela. **Universidad & Ciencia**, Tabasco, v. 5, n. 2, p. 01-12, 2016.

PUERARI, H. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; TAVARES-SILVA, C. A.; ARIEIRA, J. O.; BIELA, F.; POLETINE, J. P. Ecolife® and manganese phosphite in the control of *Meloidogyne javanica* and in the development of soybean cultivars susceptible and resistant to the nematode. **Nematropica**, Auburn, v. 43. n. 1, p. 105-112, 2013.

PUERARI, H. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; CARDOSO, M. R.; HERNANDES, I.; BRITO, O. D. C. Resistance inducers in the control of root lesion nematodes in resistant and susceptible cultivars of maize. **Phytoparasitica**, Dordrecht, v. 14, n. 1, p. 447-449, 2015.

RAMOS JUNIOR, E. U.; FRANCHINI, J. C.; DEBIASI, H.; FERRARI, E.; FALEIRO, V. O.; SHIRATSUCHI, L. S.; DIAS, W. P.; FREITAS, C. M.; SILVA, E. E.; TAVARES, G. F. Cultivo de soja e sua influência na população de *Pratylenchus brachyurus* e na produtividade de grãos. In: VII CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA. **Anais...** Embrapa: Mercasoja, 2015.



RUIZ, W. F. R. **Atividades de superóxido dismutase, catalases e peroxidase durante o desenvolvimento de micorrizas arbusculares em feijoeiro, sob condições de baixo e alto nível de fosfato.** Dissertação (Mestrado em agricultura). Escola superior de Agricultura ‘Luiz de Queiroz’. Piracicaba, 1998.

SOUZA, C. C. M.; PEDROSA, E. M. R.; ROLIM, M. M.; OLIVERIA FILO, R. A. de.; SOUZA, M. A. L. M. PEREIRA FILHO, J. V. Crescimento e respostas enzimáticas do feijoeiro caupi sob estresse hídrico e nematoide de galhas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v. 19, n. 2, p. 113–118, 2015.

SANTIN, R. de C. M. **Potencial do uso dos fungos *Trichoderma* spp. e *Paecilomyces lilacinus* no biocontrole de *Meloidogyne incognita* em *Phaseolus vulgaris*.** Tese (Doutorado em Fitotecnia) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

SHARON, E.; CHET, I.; VITERBO, A.; BAR-EYAL, M.; NAGAN, H.; SAMUELS, G. J.; SPIEGEL. Y. Parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* and role of the gelatinous matrix. **European Journal of Plant Pathology**, Utrecht, v. 118, p. 247-258, 2007.

SHARON, E.; BAR-EYAL, M.; CHET, I.; HERRERA-ESTRELLA, A.; SPIEGEL. Y. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 91, p. 687-693, 2001.

SZABÓ, M.; CSEPREGI, K.; GÁLBER, M.; VIRÁNYT, F.; FEKETE, C. Control plant-parasitic nematodes with *Trichoderma* species and nematode-trapping fungi: the role of chi18-5 and chi18-12 genes in nematode egg-parasitism. **Biological Control**, Texas, v. 63, n. 2, p. 121-128, 2012.

VARGAS, R.; WANG, A.; OBREGÓN, M.; ARAYA, M. Efecto de *Trichoderma* spp., *Paecilomyces lilacinus* y la inyección de nematicida en el pseudotallo en el combate de *Radopholus similis* y la producción de banano. **Agronomía Costarricense**, San José, v. 39, n. 2, p. 61-76, 2015.

VENCATO, A. Z. **Anuário Brasileiro da Soja 2010.** Santa Cruz do Sul: Ed.Gazeta Santa Cruz, p. 144, 2010.

WITTER, L.; SANTOS, L. C.; ROCHA, M. R.; BARBOSA, K. A. G. Indução de resistência no manejo integrado de *Pratylenchus brachyurus* na cultura de cana-de-açúcar. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO-CONPEEX. **Anais...** Goiânia: UFG, pp. 6060-6074, 2013.

YEDIDIA, I.; SHORESH, M.; KEREM, Z.; BENHAMOU, N.; KAPULNIK, Y.; CHET, I. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas spingae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, p. 7343-7353, 2003.