

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

HERIKSEN HIGASHI PUERARI

Ativadores de defesa no controle de *Pratylenchus brachyurus* em milho (*Zea mays*)

Maringá
2018

HERIKSEN HIGASHI PUERARI

Ativadores de defesa no controle de *Pratylenchus brachyurus* em milho (*Zea mays*)

Tese 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 Doutor em Agronomia
Área de concentração: Proteção de Plantas

Orientador: Prof^a. Dr^a. Cláudia Regina Dias Arieira

Maringá
2018

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

P977a Puerari, Heriksen Higashi
Ativadores de defesa no controle de *Pratylenchus brachyurus* em milho (*Zea mays*) / Heriksen Higashi
Puerari. -- Maringá, 2018.
117 f. : il., figs., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Cláudia Regina Dias Arieira.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2018.

1. Nematóide das lesões radiculares. 2. *Pratylenchus brachyurus*. 3. *Zea mays*. 4. Manejo alternativo. 5. Indução de resistência. 6. Enzimas - Defesa. 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 21.ed. 633.15

ECSL-1202/9

FOLHA DE APROVAÇÃO

HERIKSEN HIGASHI PUERARI

Ativadores de defesa no controle de *Pratylenchus brachyurus* em milho (*Zea mays*)

Tese 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 Doutor em Agronomia pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof.^a Dr.^a Cristiane Mendes da Silva-Reis
Centro Universitário Integrado

Prof. Dr. Willian Mário de Carvalho Nunes
Universidade Estadual de Maringá

Prof.^a Dr.^a Mara Rúbia da Rocha
Universidade Federal de Goiás

Prof.^a Dr.^a Cláudia Regina Dias Arieira
Universidade Estadual de Maringá

Prof.^a Dr.^a Kátia R. Freitas Schwan Estrada
Universidade Estadual de Maringá

Aprovada em: 30 de Janeiro de 2018.
Local de defesa: Sala n° 102-A, Bloco J-52, Campus Universitário da Universidade
Estadual de Maringá.

AGRADECIMENTO(S)

Agradeço aos meus colegas do Grupo de Estudos em Nematologia (GREN) da Universidade Estadual de Maringá, Bruna Orlandini Toninato, Monique Thiara Rodrigues, Vinicius José Santos Silva, Paulo Ricardo Barbosa Pontalti, Paula Juliana Grotto, Beatriz Almeida e Silva e Guilherme Tarini, pelo auxílio na execução deste trabalho.

Agradeço aos orientandos de pesquisa da Prof^a. Dr^a. Kátia Regina Freitas Schwan Estrada, em especial a doutoranda Virlene Amaral Jardimetti, pela auxílio nas análises enzimáticas executadas nesta tese.

Aos meus amigos, Michelly Ragazzi Cardoso, Angélica Miamoto, Carolina Pereira, Tereza Cristina Sasaki e Natália Puerari Trevisan, que me acompanharam durante todo o doutorado, auxiliando não apenas no trabalho, mas pela amável companhia e amizade.

Agradeço a Universidade Estadual de Maringá, por disponibilizar a estrutura física e base de acesso à literatura utilizada para execução do trabalho. Como também ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo fornecimento da bolsa de doutorado e apoio financeiro ao projeto.

Agradeço a meus pais, Valdecir Puerari e Marcia Frederico Higashi Puerari, e a meus avós, Nair Puerari, Liduino Puerari e Josefa Frederico Higashi pelo apoio, atenção e carinho concedido.

Por último e não menos importante, agradeço a Prof^a. Dr^a. Claudia Regina Dias Arieira, a qual, além da fantástica orientação, ensinou-me a ver a beleza e a amar a fitopatologia, assim como, acreditou no presente trabalho, incentivando e auxiliando em todos os momentos, nestes maravilhosos 10 anos de trabalho em conjunto. Meus sinceros agradecimentos.

EPÍGRAFE

“Na vida, não existe nada a temer, mas a entender”.
(MARIE CURIE)

Ativadores de defesa no controle de *Pratylenchus brachyurus* em milho (*Zea mays*)

RESUMO GERAL

A espécie *Pratylenchus brachyurus* tem sido rotineiramente relatada no país em áreas produtoras de soja e milho, causando perdas na produtividade destas culturas. Seu controle é dificultado devido à ampla gama de hospedeiros e seu caráter endoparasita migrador no sistema radicular, dificultando o contato direto de produtos destinado a seu controle. A indução de resistência tem sido observada em vários patossistemas envolvendo nematoide-plantas, mostrando-se eficaz no controle destes patógenos, pois atua sobre a planta, ativando seus mecanismos de resistência. Logo, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de compostos químicos e orgânicos na ativação de defesa a *P. brachyurus* em milho. No primeiro capítulo estudou-se a ação dos produtos Bion 500 WG[®] (ASM; Syngenta), Ecolife[®] (Biomassa cítrica; Quinabra) e Phytogard Manganês[®] (fosfito de manganês; Sttoller) aplicados na parte aérea de plântulas de milho, em relação ao controle deste nematoide. Para isso, plântula de milho cv. AL Bandeirante e cv. GNZ 2005, suscetível e resistente a *P. brachyurus*, respectivamente, foram semeadas em vasos de 1,5 L contendo solo e areia (2:1; v:v) autoclavado. Dez dias após a germinação, as plântulas foram inoculadas com 1000 espécimes de *P. brachyurus*. As mesmas foram pulverizadas separadamente, com os produtos sete e um dia antes da inoculação e sete dias após a inoculação, nas doses de 0,5 g L⁻¹ (Bion 500 WG[®]); 20 mL L⁻¹ (Ecolife[®]) e 1,5 mL L⁻¹ (Phytogard Manganês[®]) de água. Sessenta dias após aplicação dos produtos, as plantas foram avaliadas quanto aos parâmetros vegetativos e nematológicos. Já no segundo capítulo, estudou-se a ação do ASM aplicado na parte aérea de plântulas de milho cv. AL Bandeirantes. Para este experimento, a semeadura foi realizada em vasos de 700 mL e dez dias após a germinação, as plântulas foram submetidas a quatro tratamentos: plântulas inoculadas com *P. brachyurus* e tratadas com ASM (IT), plantas inoculadas e não tratadas (INT), plantas não inoculadas e tratadas (NIT) e plantas não tratadas e não inoculadas (NINT). As plantas tratadas foram pulverizadas com ASM na dose de 0,5 g L⁻¹ de água do produto comercial (Bion 500 WG[®]), enquanto as plantas inoculadas receberam uma população de 800 espécimes do nematoide no mesmo dia dos tratamentos com ASM. A cada cinco (experimento 1) e dois dias (experimento 2), as plantas foram retiradas dos copos e as raízes lavadas. Retirou-se aproximadamente 0,5 g de tecido foliar e radicular para a realização das análises enzimáticas. Aos 30 e 60 dias após inoculação,

cinco plantas dos tratamentos inoculados (IT e INT), foram retiradas e avaliadas quanto aos parâmetros vegetativos e nematológicos. Avaliou-se a atividade das enzimas peroxidase (POX), polifenoloxidase (PPO), fenilalanina amônia-liase (PAL) e β -1,3-glucanase (GLU). Para o terceiro capítulo utilizou-se de metodologia semelhante ao apresentado no capítulo dois, porém sendo avaliado apenas os tratamentos inoculados, com e sem ASM, nos mesmos períodos anteriores. Entretanto, neste caso, as raízes foram submetidas ao processo de coloração com fucsina ácida, sendo avaliado o número de espécimes, ovos e total de nematoides (espécimes + ovos), assim como mensurou-se o comprimento das espécimes estendidas para avaliar o desenvolvimento dos mesmos.

Em experimento realizado no primeiro capítulo observou-se que o ASM foi eficiente em reduzir a população do nematoide em ambas cultivares. Ecolife[®] promoveu redução do nematoide na cultivar suscetível; enquanto os resultados para o fosfito de manganês foram variáveis. De forma geral, os produtos não apresentaram efeito aditivo sobre o desenvolvimento da planta, sendo significativo apenas para o fator cultivar. No capítulo dois, o ASM foi novamente eficiente em reduzir a população do nematoide nas raízes de milho, assim como não apresentou diferença significativa sobre os parâmetros vegetativos. Na parte aérea, com exceção da enzima PAL, todas as enzimas apresentaram maior atividade nas plantas tratadas com ASM. Além disso, foi possível observar maior atividade de todas as enzimas nas raízes de milho, principalmente aos cinco e seis dias após tratamento em plantas pulverizadas com o produto. Para o capítulo três, pode-se observar redução no número de espécimes e ovos no sistema radicular das plantas tratadas com ASM aos 8 e 10 DAT. Com relação aos desenvolvimentos, verificou-se aumento na proporção de espécimes em estágio inicial de desenvolvimento e menor proporção de espécimes apresentando entre 0,5 a 0,65 mm de comprimento em plantas tratadas com ASM em comparação ao controle.

Palavras-chave: Nematoides das lesões radiculares. Manejo alternativo. Indução de resistência. Enzimas relacionadas à defesa.

Defense activators to control of *Pratylenchus brachyurus* in maize (*Zea mays*)

ABSTRACT OVERVIEW

Pratylenchus brachyurus specie have been routinely reported in soybean and maize producing areas of Brazil causing losses in the productivity of these crops. Its control is hampered due to the wide range of hosts and its endoparasite character in the root system, making it difficult to direct contact of products destined to its control. Resistance induction has been observed in several nematode-plant pathosystems, proving to be effective in the control of these pathogens, since it acts on the plant, activating its resistance mechanisms. Therefore, the present work aimed to evaluate the effect of chemical and organic compounds in the defense activation in maize to *P. brachyurus*. In the first chapter, we studied the action of Bion 500 WG® (ASM; Syngenta), Ecolife® (Citric biomass; Quinabra) and Phytogard Manganês® (manganese phosphite; Sttoller) products, applied on aerial part of maize seedlings, in the control of this nematode. For this, corn seedlings cv. AL Bandeirante and cv. GNZ 2005, susceptible and resistant to *P. brachyurus*, respectively, were sown in 1.5 L pots containing soil:sand (2:1; v:v) autoclaved. Ten days after germination, the seedlings were inoculated with 1000 specimens of *P. brachyurus*. They were sprayed separately with the products seven and one day prior to inoculation and seven days after inoculation at the doses of 0.5 g L⁻¹ (Bion 500 WG); 20 mL L⁻¹ (Ecolife®) and 1.5 mL L⁻¹ (Phytogard Manganês®) of water. Sixty days after application of the product, the plants were evaluated for vegetative and nematological parameters. In the second chapter, we studied the action of ASM applied on aerial part of corn seedlings cv. AL Bandeirantes. For this experiment, corn seeds were sown in 700 mL cups and ten days after germination, the seedlings were submitted to four treatments: plants inoculated with *P. brachyurus* and treated with ASM (IT), inoculated and untreated plants (INT), uninoculated and treated plants (NIT) and untreated and uninoculated plants (NINT). The treated plants were sprayed with ASM commercial product at the dose of 0.5 g L⁻¹ of water, while the inoculated plants received a population of 800 nematode specimens at the same day of the ASM treatments. Every five (experiment 1) and two days (experiment 2), the plants were removed from the cups and their roots washed. Approximately 0.5 g of foliar and root tissue were collected for the enzymatic analyzes. At 30 and 60 days after inoculation, five plants of the inoculated treatments

(IT and INT) were removed and evaluated the vegetative and nematological parameters. The activity of the enzymes peroxidase (POX), polyphenol oxidase (PPO), phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and β -1,3-glucanase (GLU) were evaluated. For the third chapter, it was used a similar methodology to that presented in chapter two, but only with inoculated treatments, with and without ASM application, were evaluated in the same previous periods. However, in this case, the roots were submitted to a fuchsin acid staining process, and the number of specimens, eggs and total nematodes (specimens + eggs) were evaluated, as well as the length of the extended specimens to evaluate the development of them. In the experiment carried out in the first chapter it was observed that the ASM was efficient in reducing the nematode population in both cultivars. Ecolife® promoted reduction of the nematode in the susceptible cultivar, while the results with manganese phosphite were variable. In general, the products did not have an additive effect in the plant development, being significant only for the cultivar factor. In chapter two the ASM was again efficient in reducing the nematode population in the maize roots, as well as did not present significant difference in the vegetative parameters. In the aerial part, with the exception of the enzyme PAL, all enzymes presented greater activity in the plants treated with ASM. In addition, it was possible to observe higher activity of all the enzymes in the maize roots, especially at five and six days after treatment in plants sprayed with the product. For chapter three, reduction in the number of specimens and eggs in the root system of plants treated with ASM at 8 and 10 DAT can be observed. With respect to development, there was an increase in the proportion of early-stage specimens of development and a lower proportion of specimens presenting between 0.5 and 0.65 mm in length of ASM-treated plants compared to control.

Keywords: Root lesion nematodes. Alternative management. Resistance induction. Defense-related enzymes.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.1 Análise do desdobramento da época de aplicação dentro de cada cultivar para os parâmetros altura de planta e massa fresca e seca da parte aérea de milho, tratado com acibenzolar-S-metil, em experimentos realizados em dois períodos diferentes 52
- Tabela 1.2 Análise do desdobramento da época de aplicação dentro de cada cultivar para os parâmetros massa fresca de raiz e nematoide g de raiz⁻¹ de milho, tratado com acibenzolar-S-metil, em experimentos realizados em dois períodos diferentes 53
- Tabela 1.3 Análise do desdobramento da época de aplicação dentro de cada cultivar para os parâmetros altura de planta, massa fresca e seca da parte aérea de milho, tratado com EcolifeTM, em experimentos realizados em dois períodos diferentes 53
- Tabela 1.4 Análise do desdobramento da época de aplicação dentro de cada cultivar para os parâmetros massa fresca de raiz e nematoide g de raiz⁻¹ de milho, tratado com EcolifeTM, em experimentos realizados em dois períodos diferentes 54
- Tabela 1.5 Análise do desdobramento da época de aplicação dentro de cada cultivar para os parâmetros altura de planta, massa fresca e seca da parte aérea de milho, tratado com fosfito de manganês, em experimentos realizados em dois períodos diferentes 55
- Tabela 1.6 Análise do desdobramento da época de aplicação dentro de cada cultivar para os parâmetros massa fresca de raiz e nematoide g de raiz⁻¹ de milho, tratado com fosfito de manganês, em experimentos realizados em dois períodos diferentes 55
- Tabela 2.1 Número de *Pratylenchus brachyurus* por grama de raiz (população final) e porcentagem de redução em comparação à testemunha em milho avaliado aos 30 e 60 dias (experimento 1) e aos 30 dias após tratamentos (experimento 2) com acibenzolar-S-metil 70
- Tabela 2.2 Atividade específica das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase em folhas de plantas de milho inoculado com 800 espécimes de *P. brachyurus* e tratado ou não com acibenzolar-S-metil, analisadas no experimento 1 71
- Tabela 2.3 Atividade específica das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase em raízes de plantas de milho inoculado com 800 espécimes de *P. brachyurus* e tratado ou não com acibenzolar-S-metil, analisadas no experimento 1 72

Tabela 2.4 Atividade específica das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia- liase em folhas de plantas de milho inoculado com 800 espécimes de <i>P. brachyurus</i> e tratado ou não com acibenzolar-S-metil, analisadas no experimento 2.....	75
Tabela 2.5 Atividade específica das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia- liase em raízes de plantas de milho inoculado com 800 espécimes de <i>P. brachyurus</i> e tratado ou não com acibenzolar-S-metil, analisadas no experimento 2.....	76
Tabela 3.1 Número de espécimes (juvenis e adultos), de ovos e população total (espécimes + ovos) de <i>P. brachyurus</i> inoculado em plântulas de milho aos 5, 10 e 15 dias após tratamento com ASM. Experimento 1.	99
Tabela 3.2 Número de espécimes (juvenis e adultos), de ovos e população total (espécimes + ovos) de <i>P. brachyurus</i> inoculado em plântulas de milho aos 5, 10 e 15 dias após tratamento com ASM. Experimento 2.	100
Tabela 3.3 Número de <i>Pratylenchus brachyurus</i> por grama de raiz (população final) e porcentagem de redução em comparação à testemunha em milho avaliado aos 30 e 60 dias (experimento 1) e aos 30 dias após tratamentos (experimento 2) com acibenzolar-S- metil.....	104

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Porcentagem de espécimes apresentando comprimento de 0,10-0,29 mm (A), 0,30-0,49 mm (B) e 0,50-0,69 mm (C) mensurados em raízes de milho aos 5, 10 e 15 dias após os tratamentos, com e sem aplicação de ASM no experimento 1. Barras de mesma letra não diferem entre si pelo teste T a 5 % de probabilidade; ns=não significativo.	101
Figura 1.2 Porcentagem de espécimes apresentando comprimento de 0,10-0,29 mm (A), 0,30-0,49 mm (B) e 0,50-0,69 mm (C) mensurados em raízes de milho aos 2, 4, 6, 8, 10 e 12 dias após os tratamentos, com e sem aplicação de ASM no experimento 2. Barras de mesma letra não diferem entre si pelo teste T a 5 % de probabilidade; ns=não significativo.	103
Figura 2.1 Curva de proteínas utilizada para cálculo do teor de proteínas (mg mL ⁻¹ de amostra) em experimento 1	116
Figura 2.2 Curva de ácido trans-cinâmico utilizada para o cálculo da atividade específica da enzima Fenilalanina amônia-liase (mg de ácido trans-cinâmico h ⁻¹ mg ⁻¹ de proteína) em experimento 1	116
Figura 2.3 Curva de proteínas utilizada para cálculo do teor de proteínas (mg mL ⁻¹ de amostra) em experimento 2	117
Figura 2.4 Curva de ácido trans-cinâmico utilizada para o cálculo da atividade específica da enzima Fenilalanina amônia-liase (mg de ácido trans-cinâmico h ⁻¹ mg ⁻¹ de proteína) em experimento 2	117
Figura 2.5 Curva de glicose utilizada para o cálculo da atividade específica da enzima β-1,3-glucanase (mg de glicose h ⁻¹ mg ⁻¹ de proteína) em experimento 2	118

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
1.1.1 Milho e sua importância econômica nacional.....	3
1.1.2 Nematoides na cultura do milho	4
1.1.3 Gênero <i>Pratylenchus</i>	6
1.1.4 Disseminação, sobrevivência e principais métodos de controle de <i>P. brachyurus</i>	9
1.1.5 Indução de resistência.....	12
1.1.6 Acibenzolar-S-metil no controle de nematoides sedentários.....	15
1.1.7 Expressão de enzimas de defesa no controle de nematoides	18
1.1.8 Ativação de defesas no controle de <i>P. brachyurus</i>	26
1.1.9 Referências bibliográficas.....	27
Capítulo 1 Indutores de resistência no controle de nematoides das lesões radiculares em milho resistente e suscetível	46
RESUMO	47
ABSTRACT	48
INTRODUÇÃO	49
MATERIAL E MÉTODOS	50
RESULTADOS.....	51
DISCUSSÃO	55
CONCLUSÃO	58
AGRADECIMENTO.....	58
REFERÊNCIAS.....	58
Capítulo 2 Atividade enzimática induzida por acibenzolar-S-metil no controle de <i>Pratylenchus brachyurus</i> em milho	62
RESUMO	63
ABSTRACT	64
INTRODUÇÃO	65
MATERIAL E MÉTODOS	66
RESULTADOS.....	69
DISCUSSÃO	77
CONCLUSÕES	82

REFERÊNCIAS.....	83
Capítulo 3 Penetração e desenvolvimento de <i>Pratylenchus brachyurus</i> em raízes de milho pulverizado com acibenzolar-S-metil.....	92
RESUMO	93
ABSTRACT	94
INTRODUÇÃO	95
MATERIAL E MÉTODOS	96
RESULTADOS.....	98
DISCUSSÃO	104
CONCLUSÃO	108
REFERÊNCIAS.....	108
CONCLUSÃO GERAL	115
APÊNDICE A.....	116

1 INTRODUÇÃO GERAL

A produtividade agrícola é determinada por fatores, como cultivares, disponibilidade de água, adubação, clima, pragas e doenças (TAIZ; ZEIGER, 2008). As doenças radiculares, ocasionadas por nematoides, fungos e bactérias, estão entre as principais causadoras de redução de produtividade de culturas de interesse alimentar, ocorrendo com maior intensidade em regiões tropicais, entretanto, elas têm recebido pouca atenção quando comparadas às doenças foliares (MICHEREFF; ANDRADE; MENEZES, 2005).

O controle de doenças radiculares é considerado um desafio, pois os patógenos coevoluíram com as plantas e estão altamente adaptados ao ambiente subterrâneo em associação com o hospedeiro (MICHEREFF; ANDRADE; MENEZES, 2005). Os fitonematoides são organismos causadores de doenças em plantas, que proporcionam consideráveis danos, em especial, os causadores de galhas e lesões radiculares e os formadores de cisto, pois provocam graves lesões nas raízes do hospedeiro, redução acentuada do crescimento e relevantes perdas na produtividade de diversas culturas (WILLIAMSON; HUSSEY, 1996). Portanto, o controle de nematoides exige o emprego de um conjunto de métodos ou manejo integrado, já que estes organismos possuem cutícula pouco permeável conferindo-lhes grande resistência aos agentes físicos e químicos.

Os métodos mais utilizados no controle de nematoides são o químico e genético. No entanto, o uso de nematicida além de ser oneroso, pode gerar resíduos químicos nocivos ao homem e ao meio ambiente, além de selecionar populações resistentes de nematoides aos produtos utilizados (GHINI; KIMATI, 2000). A utilização da resistência genética apresenta como fator limitante a escassez de material com bom padrão de resistência, além da restrição quanto à região, clima e espécies de nematoides causadores de doenças (FRANZENER, 2007).

O uso de indutores de resistência, também chamados de eliciadores, pode ser uma alternativa viável de controle de doenças, sendo citado como um método alternativo, com baixa ou nenhuma toxidez, além de não deixar resíduos tóxicos à planta e ambiente tratado (CAETANO, 2011).

Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a ação de três produtos, Bion 500 WG[®] (ASM; Syngenta), Ecolife[®] (Biomassa cítrica; Quinabra) e Phytogard Manganês[®] (fosfito de

manganês; Sttoller), aplicados em pulverização, no controle de *P. brachyurus* em milho. Observar o efeito da aplicação de ASM na atividade das enzimas de defesa, peroxidase, polifenoloxidase, fenilalanina amônia-liase e β -1,3-glucanase em parte aérea e sistema radicular de milho. Assim como, analisar a penetração, desenvolvimento e reprodução desta espécie no sistema radicular de milho tratado com ASM.

1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1.1 Milho e sua importância econômica nacional

O milho é uma monocotiledônea, pertencente à família Poaceae, Subfamília Panicoidae, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* (L.). É uma espécie herbácea, anual, estival (clima temperado), alta, ereta e com crescimento determinado. Produz folhas grandes e estreitas com disposição oposta emitidas alternativamente ao longo do colmo e flores unisexuais com posições distintas na mesma planta (TRIPATHI et al., 2011).

A cultura é originária da região mesoamericana, mais especificamente do México e Guatemala, porém sua exata genealogia é desconhecida, mas acredita-se que o milho foi obtido a partir de uma gramínea denominada Teosinte (*Z. mexicana*), cujas variações genéticas naturais foram selecionadas pelo homem, por meio de um processo inconsciente de seleção que, gradativamente, levou à redução do número de espigas por planta e ao aumento do número de fileiras de grãos e no comprimento das espigas, tornando-as maiores e semelhantes às espigas conhecidas atualmente (FAO; IPGRI, 2002; DOEBLEY, 2004; LERAYER, 2006). No século XV, com a descoberta do continente americano o produto foi levado para a Europa, sendo então distribuído para o resto do mundo, principalmente nas regiões de clima temperado (PALIWAL et al., 2000; FARNHAN; BENSON; PEARCE, 2003).

O milho é um dos mais importantes produtos do setor agrícola brasileiro, sendo o segundo mais cultivado, ficando abaixo apenas da soja (*Glycine max* (L.) Merrill), apresentando constante aumento na área de plantio e produtividade. O país apresenta-se como o terceiro maior produtor e quarto maior exportador do grão no âmbito global, gerando recursos de US\$ 3,4 bilhões, apenas com a exportação (SEAB, 2015). A principal forma de uso deste grão no país é destinada à produção de rações de suínos, aves e bovinos, representando quase 80% de todo o milho produzido (SOUZA; BRAGA, 2004).

A produção de milho no Brasil pode ser realizada em duas épocas de plantio. A semeadura de verão, também chamada de primeira safra, a qual é realizada durante o período chuvoso, que varia entre o fim de agosto, na região Sul, outubro ou novembro, no Sudeste e Centro-Oeste, e em janeiro ou fevereiro na região Nordeste. Já a semeadura de segunda safra, comumente denominado safrinha, refere-se ao milho de sequeiro, cultivado extemporaneamente em fevereiro ou março,

geralmente após o cultivo da soja precoce, ocorrendo, predominantemente, na região Centro-Oeste e nos estados do Paraná, de São Paulo e de Minas Gerais (CRUZ et al., 2011).

A segunda safra tem apresentado importância crescente no cenário nacional. Na safra de 1990/91, esta correspondia a 6% de toda produção de milho no país, enquanto a primeira safra era responsável pelos demais 94% da produção. Já na safra de 2013/14, a segunda safra (safrinha) passou a representar 58,2% de todo o milho produzido. Esta mudança de oferta entre primeira e segunda safra foi possível graças ao avanço tecnológico, gerando impacto, inclusive, no cultivo de soja na primeira safra (BARROS; ALVES, 2015). Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2016), a área de cultivo de milho, reunindo a primeira e segunda safra, no período 2016/17, atingiu 17.346,5 mil hectares e produção recorde de 93.835,7 mil toneladas, sendo estes valores 8,9 e 41,0% superiores aos observados na safra 2015/16, respectivamente.

No país, o milho destaca-se como a principal cultura para rotação ou sucessão com soja, principalmente pela possibilidade de realizar a segunda safra. Porém, o sistema de cultivo soja-milho tem causado constante aumento nas populações do nematoide das lesões radiculares, especialmente da espécie *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev e Schuurmans Steekhoven (DIAS et al., 2010).

1.1.2 Nematoides na cultura do milho

O milho é uma cultura suscetível a diferentes nematoides parasitas de plantas, sendo relatadas mais de 60 espécies associadas a esta cultura em diferentes partes do mundo, estando presentes nas raízes ou na rizosfera. Porém, os nematoides pertencentes aos gêneros *Meloidogyne*, *Pratylenchus* e *Heterodera* têm sido considerados fatores limitantes à produção de milho no mundo (McDONALD; NICOL, 2005).

Dentre as espécies do gênero *Meloidogyne*, *M. javanica* (Treub) Chitwood e *M. incognita* (Kofoid e White) Chitwood são as espécies mais comumente encontradas nas áreas produtoras de milho no mundo (McDONALD; NICOL, 2005). No Brasil, observou-se danos causados pela presença da espécie *M. incognita* raça 3, em raízes de milho com baixo desenvolvimento em condições a campo (LORDELLO; LORDELLO; SAWAZAKI, 1996). Porém, atualmente, o milho tem sido indicado para rotação em áreas infestadas com *Meloidogyne* spp. devido a existência de híbridos/cultivares com baixo fator de reprodução para estas espécies, principalmente para *M.*

javanica (MANZOTTE et al., 2002; RIBEIRO et al., 2002; WILCKEN et al., 2006; LEVY et al., 2009).

Quanto ao gênero *Heterodera*, embora mais de nove espécies de nematoides dos cistos tenham sido relatados no milho em regiões tropicais e subtropicais, apenas as espécies *H. zae* Koshiy, Swarup e Sethi (Índia, Egito, EUA, Tailândia), *H. avenae* Wollenweber (Índia, Egito) e *Punctodera chalcoensis* Stone, Sosa Moss e Mulvey (México) são consideradas economicamente importantes (LUC, 1986). Estas três espécies são consideradas pragas quarentenárias ausentes no Brasil. A espécie de nematoide de cisto que ocorre no país é *Heterodera glycines* Ichinohe, à qual o milho é considerado um mal hospedeiro, sendo indicado como cultura de rotação, objetivando o controle do nematoide (MAPA, 2008; COSTA; CASELA; COTA, 2009).

Os nematoides do gênero *Pratylenchus* estão amplamente distribuídos no mundo, sendo as espécies *P. hexincisus* Taylor e Jenkins, *P. penetrans* (Cobb) Chitwood e Oteifa e *P. scribneri* Steiner as mais comuns em zonas temperadas do globo, tais como norte e nordeste dos Estados Unidos, Canadá e Europa. Entretanto, as espécies *P. brachyurus* Filipjev e Schuurmans Stekhoven e *P. zae* Graham são mais comuns em zonas tropicais como sudoeste dos Estados Unidos, Ásia e África (BRIDGE; STARR, 2007).

No Brasil, as espécies *P. brachyurus* e *P. zae* são as mais prejudiciais quando considerado sua patogenicidade, distribuição e elevado número de indivíduos observados em áreas de milho (MONTEIRO, 1963; LORDELLO, 1984; SAWAZAKI; LORDELLO; LORDELLO, 1987; PINTO; SANTOS; WRUCK, 2006). Atualmente, tem-se observado aumento na ocorrência da espécie *P. brachyurus*, principalmente nas regiões produtoras de milho, nas quais predomina o cultivo do mesmo em sucessão à soja, cultura esta, também suscetível ao nematoide (MENDONÇA-FILHO et al., 2012).

Em levantamento realizado em áreas produtoras de milho no município de Jataí (Goiás), das 33 amostras avaliadas em diferentes microrregiões, 21 delas apresentavam a presença do nematoide *P. brachyurus* no solo ou raiz da cultura (SILVA, 2007). Entretanto são escassos os levantamentos desta espécie de nematoide na cultura do milho, ocorrendo principalmente em áreas produtoras de soja.

No estado do Mato Grosso, amostras de oito municípios foram analisadas e em todas constatou-se a presença de nematoides do gênero *Pratylenchus* em soja, no qual o município de

Lucas do Rio Verde apresentou maior incidência deste nematoide, estando presente em 2793 amostras analisadas (FUNDAÇÃO RIO VERDE, 2014). Levantamento semelhante foi realizado também no estado do Mato Grosso, no qual foi constatado a presença desta mesma espécie de nematoide em 96% das amostras analisadas, obtidas de 19 municípios produtores de soja no estado (RIBEIRO; DIAS, 2009).

Já em regiões produtoras de soja no estado da Bahia, os nematoides do gênero *Pratylenchus* foram encontrados em mais de 85% das amostras analisadas, enquanto na RIDE (Região Integrada de Desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno), região abrangida por 16 municípios do estado de Goiás, quatro do Distrito Federal e dois de Minas Gerais, foi observada a presença do nematoide *P. brachyurus* em pelo menos uma amostra de todos os municípios analisados (LOPES, 2015; ALVES, 2015). Vale ressaltar que estas regiões produtoras de soja, citadas anteriormente, comumente, realizam a semeadura de milho na segunda safra, servindo de fonte de inóculo deste nematoide à cultura subsequente do milho (CONAB, 2016).

1.1.3 Gênero *Pratylenchus*

O gênero *Pratylenchus* é considerado um dos mais importantes para agricultura, devido às perdas ocasionadas nas principais culturas de interesse agrônômico, ampla gama de hospedeiros e extensa distribuição de algumas espécies em áreas cultivadas em todo planeta (CASTILLO; VOVLAS, 2007).

Todos os membros deste gênero são endoparasitas migradores, que se alimentam das células do córtex radicular, ocasionando a formação de lesões necróticas nas raízes das plantas infectadas, sintoma este que conferiu à espécie o nome comum de nematoide das lesões radiculares (TIHOHOD, 1993; CASTILLO; VOVLAS, 2007). Dentre as principais culturas hospedeiras deste patógeno no Brasil, destacam-se a soja, cana-de-açúcar, citros, café, milho, algodão, batata, mandioca, quiabeiro, amendoim forrageiro, banana e diversas ornamentais (TIHOHOD, 1993; CAVALCANTE et al., 2001; TENENTE et al., 2002; INOMOTO; SILVA; PIMENTEL, 2004; ROSA et al., 2012).

Atualmente, este gênero possui 104 espécies descritas, porém apenas seis são frequentemente encontradas no Brasil, associadas a diferentes culturas, sendo elas, *P. brachyurus*,

P. coffeae (Zimmermann) Goodey, *P. jaehni* Inserra, *P. penetrans*, *P. vulnus* Allen; Jensen e *P. zae* (GONZAGA et al., 2016).

O gênero possui como principais características morfológicas a forma vermiforme em todas as fases de desenvolvimento, com comprimento inferior a 1 mm (0,3 a 0,9 mm) e região labial baixa e esclerotizada, menor que a metade do diâmetro do anel labial basal, contendo de dois a quatro anéis labiais, estilete forte e curto, glândulas esofagianas recobrimdo o intestino, campo lateral composto de quatro linhas e cauda arredondada, com presença de fasmídeos. Além disso, as fêmeas de todas as espécies são monodelfas e prodelfas, com a vulva situada no terço posterior do corpo (MAI; MULLIN, 1996; TIHOHOD, 1997).

Pratylenchus spp. apresenta ciclo de vida de três a nove semanas, sendo este período dependente da espécie de nematoide, tipo de hospedeiro, umidade e temperatura. Seu desenvolvimento inicia-se dentro do ovo pelo processo de embriogênese, formando inicialmente o juvenil de primeiro estágio (J1). Ainda no interior do ovo, ocorre a primeira ecdise, originando o juvenil de segundo estágio (J2). Este eclode do ovo e passa por mais três ecdises até alcançar a forma adulta, processo que permite a formação dos órgãos reprodutivos do nematoide (ROMÁN; HIRSCHMANN, 1969).

A eclosão de *Pratylenchus* spp., geralmente, não é dependente da presença de exsudatos radiculares, porém um estudo realizado em condições de casas de vegetação, com *P. brachyurus* e *P. zae*, demonstrou a influência de exsudatos de milho na eclosão destes nematoides (De WAELE; LOOTS; HEYNS, 1988). Um estudo posterior *in vitro*, demonstrou que o aminoácido lisina, substância secretada pelas raízes de milho, proporcionou aumento na eclosão do nematoide *P. zae* (De WAELE; LOOTS; WOLMARANS, 1989).

Diferentemente de outras espécies de nematoides, todas as fases de desenvolvimento do *Pratylenchus* spp. é capaz de infectar os tecidos radiculares, dentro dos quais permanecem a maior parte do seu ciclo de vida. Quando adultas, as fêmeas ovopositam no interior das raízes infestadas, sendo os ovos depositados individualmente ou em grupos dispostos em fileira ou, ainda, no solo adjacente à raiz (CASTILLO; VOVLAS, 2007).

Este gênero pode se alimentar de pelos radiculares, células epidérmicas e corticais do sistema radicular e órgãos subterrâneos de armazenamento, visto que o estilete pode penetrar a parede celular, na qual o patógeno secreta substâncias provenientes das glândulas esofagianas, que

degradam o conteúdo celular, para posterior ingestão deste citoplasma celular (JONES; FOSU-NYARKO, 2014).

Durante o processo de penetração e alimentação, *Pratylenchus* spp. causa redução no crescimento do sistema radicular com formação de lesões, caracterizadas como áreas necróticas escuras, ocasionada pela morte das células do parênquima cortical e epiderme, que servem como porta de entrada para outros patógenos, como fungos e bactérias causadores de podridões radiculares (LOOF, 1991; JONES et al., 2013). Tais danos provocam sintomas reflexos na parte aérea da planta, como nanismo, aumento de suscetibilidade ao estresse hídrico e amarelecimento ocasionadas pela menor exploração de água e nutrientes pelas raízes (LOOF, 1991; McDONALD e NICOL, 2005).

Pratylenchus brachyurus é citada como de grande importância para as principais culturas de interesse econômico no país, dentre elas a soja (JAEHN; MENDES; SILVA, 1998), milho (INOMOTO, 2011), cana-de-açúcar (SEVERINO; DIAS-ARIEIRA; TESSMANN, 2010), algodão (LORDELLO; ARRUDA, 1957), feijoeiro (CHIAMOLERA et al., 2012), aveia (BORGES; MACHADO; INOMOTO, 2010) e arroz (BIELA et al., 2016).

A cultura do milho é considerada altamente suscetível, especialmente a *P. brachyurus* (LORDELLO et al., 1985; INOMOTO, 2011). Mesmo sendo frequente na cultura milho, existem poucos estudos documentando o impacto deste patógeno na produtividade da cultura no Brasil (MacGUIDWIN; BENDER, 2016).

Estudos realizados nos Estados Unidos da América, demonstram perda de produtividade variando de 1200 a 2300 kg ha⁻¹ em áreas com alto índice populacional de nematoides deste gênero, sendo possível observar que o aumento da população em 1000 nematoides g⁻¹ de raiz ocasionou redução de 1% na produtividade de milho (BRIDGE; STARR, 2007). Enquanto na Nigéria, *P. brachyurus* tem sido responsável por redução de 28,9% na produtividade de milho (EGUNJOBI, 1974).

Evidências indiretas obtidas com o uso de nematicidas em áreas infectadas, têm demonstrado aumento de produtividade na cultura do milho, ressaltando a importância deste nematoide como fator limitante de produtividade. Na África do Sul, observou-se aumento de 33 a 128% de produtividade com a aplicação de nematicidas (WALTERS, 1979); enquanto nos Estados Unidos, tais incrementos foram de 10 a 54% (BERGESON, 1978; NORTON et al., 1978). No Brasil,

aumento de duas vezes e meia na produtividade foi obtido pelo controle químico de *P. brachyurus* em milho na região sudoeste do país (LORDELLO et al., 1983).

1.1.4 Disseminação, sobrevivência e principais métodos de controle de *P. brachyurus*

Apesar de *Pratylenchus* spp. serem nematoides migradores, sua capacidade de movimentação no solo é baixa e dependente da disponibilidade de água, textura e temperatura do solo adequadas para sua atividade (WALLACE, 1973). Mudanças e tecidos propagativos contaminados, equipamentos agrícolas ou, até mesmo, calçados contendo solo contaminado com o nematoide, podem transportar estes patógenos para áreas ainda isentas, promovendo sua dispersão a longas distâncias, enquanto a dispersão dentro da própria área ocorre, principalmente, pela água da chuva, irrigação ou uso de equipamentos agrícolas contaminados (CASTILLO; VOVLAS, 2007).

A sobrevivência do patógeno no solo durante a entressafra ocorre por meio da permanência de restos de raízes infectadas, hospedado em raízes de plantas daninhas suscetíveis ou plantas voluntárias, na forma de ovos, ou mesmo eclodidos, em estágio de anidrobiose no solo (NEVES et al., 2012; BELLÉ et al., 2015; BRAZ et al., 2016).

Após a colheita, as raízes das plantas podem permanecer vivas por períodos que variam de uma a várias semanas, podendo servir como fonte de alimento a fitonematoídeos, principalmente, sob sistema de plantio direto, no qual não ocorre a retirada ou revolvimento das raízes, além da manutenção da umidade do solo pela palhada, possibilitando uma decomposição mais lenta das mesmas (SILVA, 2011; CASÃO; ARAÚJO; LLANILLO, 2012). A destruição de raízes e a sua exposição ao sol, promove a dessecação das raízes e a exposição dos nematoídeos à luz ultravioleta, contribuindo para sua morte (BRIDGE, 1987). Porém, as vantagens do plantio direto se sobrepõem ao do sistema convencional, reduzindo a ocorrência de erosão hídrica, melhora na qualidade física e química do solo, redução de custos com maquinário, herbicidas e horas de trabalho, tendo seu uso menos frequente (MOORE; KLOSE; TABATABAI, 2000; DENARDIN et al., 2008).

Atualmente no mercado nacional, a maioria dos híbridos de milho mostraram-se suscetíveis a *P. brachyurus*. Em estudo ao qual foram analisados seis híbridos de milho, os autores não encontraram plantas resistentes ao nematoide (NEVES et al., 2016). Resultados semelhantes foram obtidos em estudo, do qual foram analisados 12 híbridos de milho e nenhum deles apresentou

resistência a *P. brachyurus*, entretanto o autor classificou os híbridos P30k75, DKB-330, AG-7088, DHB-350 e AG-7000 com fatores de reprodução (FR) de 8,23, 4,65, 4,98, 5,20, 5,27, respectivamente, como moderadamente resistentes ao nematoide, quando comparados com o híbrido DFB-390, ao qual apresentou FR de 53,46 (INOMOTO, 2011). Em outro estudo, também realizado com os híbridos P30k75 e AG-7088, foram observados FR entre 3,95 e 2,90 e 5,52 e 1,02, respectivamente, além disso, neste mesmo trabalho o híbrido GNZ 2005 foi classificado como resistente apresentando valores de FR entre 0,96 e 0,89 (MENDONÇA-FILHO et al., 2012).

Quanto ao uso de espécies forrageiras, estudo realizado com seis espécies de *Brachiaria* spp. e cinco cultivares de *Panicum maximum* Jacq., demonstrou que apenas a espécie *Brachiaria humidicola* Rendle cv. BRS Tupi mostrou-se moderadamente resistente (FR entre 0,98 e 0,44), assim como o milheto (*Pennisetum glaucum* [L.] R. Br.) cv. ADR 300, cujo FR variou de 1,33 a 0,26 (QUEIRÓZ et al., 2014).

Em estudo com diferentes espécies de gramíneas, observaram que sorgo, destinado à produção de forragem ou silagem, foi bom hospedeiro para *P. brachyurus*, com FR variando de 22,3 a 61,1 entre os genótipos, enquanto milheto cv. ADR 300 e aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.) cv. IPFA 99006 proporcionaram menor reprodução do nematoide, com FR de 0,7 e 1,2, respectivamente (INOMOTO; ASMUS, 2010). Os autores destacaram que estas duas últimas culturas de cobertura devem ser utilizadas por curto período, pois ao longo do tempo podem aumentar a população do patógeno, de forma lenta, mas progressiva. Outros estudos, confirmaram a resistência do milheto cv. ADR-300 a esta espécie de nematoide, apresentando valores de FR entre 0,98 e 0,2 (RIBEIRO et al., 2007; INOMOTO, 2011).

O sorgo (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) var. IPA 7301011 e BRS 800 foram suscetíveis ao nematoide, enquanto outras espécies quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) cv. Piabiru e amaranto cv. Alegria foram resistentes à *P. brachyurus* (INOMOTO et al., 2006a). No mesmo trabalho, as cultivares de milheto BRS 1501 e BN 2, aveia preta cv. Comum e Campeira Mor e nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.), apresentaram FR próximo a 1,0. Resultados semelhantes foram observados com aveia preta, nabo forrageiro e o consórcio entre estas duas culturas, ao qual mostraram FR de 0,47, 0,82 e 0,80, respectivamente (CHIAMOLERA et al., 2012). Em outro estudo com aveias foi observado que as cultivares de aveia preta, Embrapa-29, IPFA-99006, Comum e Embrapa-140 foram resistentes à *P. brachyurus*, por apresentarem FR inferior a 1,0, enquanto aveia amarela

(*Avena bysantina* L.) cv. São Carlos, aveia branca (*Avena sativa* L.) cv. UFRGS-17 e aveia preta cv. CPAO-0010 mostraram-se suscetíveis ao nematoide (BORGES; MACHADO; INOMOTO, 2010).

Quanto ao uso de adubos verdes e plantas antagonistas, guandu anão (*Cajanus cajan* L.) cv. Iapar 43, *Crotalaria breviflora* DC. e *Crotalaria spectabilis* Röth promoveram redução do patógeno, com FR de 0,68, 0,24 e 0,16, enquanto guandu cv. Fava Larga, mucuna (*Mucuna pruriens* [L.] DC.) cv. cinza e cv. preta, permitiram a multiplicação do nematoide, apresentando FR de 1,57, 8,73 e 14,35, respectivamente (INOMOTO et al., 2006b). Já *Crotalaria ochroleuca* G. Don. apresentou FR em torno de 0,3 (DEBIASI et al., 2011; DIAS et al., 2012), *C. breviflora* e *C. spectabilis* também mostraram baixo fator de multiplicação, 0,26 e 0,18, respectivamente, enquanto *Crotalaria mucronata* Desv. e *Crotalaria juncea* L. apresentaram FR de 1,61 e 4,27, não sendo indicadas no manejo de *P. brachyurus* (MACHADO et al., 2007). A imunidade de algumas espécies antagonistas também já foi comprovada, como observado para *C. spectabilis* e *Tagetes patula* L. (INOMOTO et al., 2006a; BORGES; MACHADO; INOMOTO, 2010).

Em relação ao controle químico, atualmente, os ingredientes ativos mais pesquisados no controle de *P. brachyurus* são abamectina, thiodicarb e fipronil, ao qual tem apresentado controle deste nematoide quando aplicado via tratamento de sementes (BORTOLINI et al., 2013; RIBEIRO et al., 2014; HOMIAK et al., 2017). Ao ser aplicado em soja, o produto abamectina foi eficiente em controlar *P. brachyurus*, presente em dois níveis populacionais, 500 e 2000 espécimes planta⁻¹, com reduções médias de 68% e 44% no número de nematoides g raiz⁻¹, respectivamente (HOMIAK et al., 2017). Trabalhos com metodologias semelhantes mostraram reduções na população de *P. brachyurus*, porém, apresentando diferentes porcentagens de reduções para os produtos thiodicarb, fipronil e abamectina, sendo observados valores de 54, 30 e 53% (BORTOLINI et al., 2013) e 28, 91 e 30% (RIBEIRO et al., 2014), respectivamente.

Estudos relacionados ao controle biológico, especificamente, a *P. brachyurus* são escassos, entretanto, trabalho realizado em soja e cana-de-açúcar com aplicação do produto comercial Nemout[®], produto este constituído de uma mistura de *Bacillus licheniformis* (Weigmann) Chester, *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn, *Trichoderma longibrachiatum* Rifai, mostraram potencial de controle deste nematoide (OLIVEIRA et al., 2011; MIAMOTO et al., 2017). Outro estudo em que aplicou-se *Bacillus amyloliquefaciens* Priest et al. em soja, o autor observou maiores reduções na

população de *P. brachyurus* à medida em que houve aumento nas doses aplicadas contendo a bactéria (MÁSCIA, 2017). Já estudo envolvendo a detecção da bactéria *Pasteuria thornei* Starr e Sayre em espécimes deste mesmo nematoide, foi observado a presença de endósporos tanto aderidos externamente à cutícula, como no interior do corpo do nematoide, porém neste estudo não houve avaliação do controle *P. brachyurus* por este microrganismo, ao qual os autores se baseiam em estudo anterior que mostra a capacidade desta bactéria em reduzir a população de nematoides (GONZAGA; SANTOS, 2009).

O uso de matéria orgânica também tem sido estudado no controle de *P. brachyurus*, principalmente em soja, na qual o uso de cama de frango foi eficiente em reduzir a população deste nematoide, sendo indicado como melhor dose a aplicação 2 t ha⁻¹ (VALE et al., 2015), enquanto a aplicação de torta de crambe, produto este, oriundo da prensagem do crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) para extração de óleo, foi eficiente em reduzir a população do nematoide, com maiores reduções obtidas na concentração de 2,5% do produto em 2 L solo (TAVARES-SILVA et al., 2015). Para o patossistema milho-*P. brachyurus*, os autores observaram redução na população do nematoide quando aplicados manipueira, cama de frango, torta de filtro, vinhaça e lodo de esgoto em comparação à testemunha sem aplicação, entretanto não houve diferença significativa quando comparados entre si (ROLDI et al., 2013).

Devido ao caráter polífago de *P. brachyurus* e à baixa disponibilidade de híbridos e culturas de rotação resistentes ao patógeno, somada à limitação que as demais práticas de manejo apresentam, a busca por novas alternativas tem sido constante e, neste contexto, alguns trabalhos têm mostrado o potencial da indução de resistência visando o controle de nematoides (NANDI et al., 2002; AHMED et al., 2009; MUTAR e FATTAH, 2013; SELIM et al., 2014).

1.1.5 Indução de resistência

A indução de resistência é definida como o aumento da capacidade de defesa das plantas contra patógenos, adquirida após a ativação de mecanismos de resistência por diversos agentes, como ativadores químicos ou microrganismos vivos (BENHAMOU; BELANGER, 1998).

O fenômeno é considerado um processo desencadeado por um sinal externo (elicitador), que se liga a um possível receptor presente na superfície da célula vegetal, transmitindo um sinal primário, que ativa os mensageiros secundários, potencializando o sinal e promovendo a expressão

de genes específicos, que ativam a produção de proteínas determinantes à resistência em plantas (LEITE; PASCHOLATI, 1997; DURRANT; DONG, 2004).

A indução de resistência sistêmica é classificada em dois principais tipos, Resistência Sistêmica Adquirida (SAR) e Resistência Sistêmica Induzida (ISR). A SAR, geralmente, apresenta como sinal molecular o ácido salicílico, sendo responsável pelo aumento na produção de proteínas relacionadas à patogênese (DURRANT; DONG, 2004; FU; DONG, 2013). Enquanto a ISR, é ativada por microrganismos não patogênicos, sendo dependentes do ácido jasmônico e etileno como sinal molecular e não estando diretamente envolvidos no acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese (CHOUDHARRY; PRAKASH; JOHRI, 2007; PIETERSE, et al., 2014).

Os elicitores, ao entrarem em contato com os tecidos da planta, desencadeiam a síntese de substâncias que agem como sinais bioquímicos, estabelecendo-se por toda a planta e ativando genes de resistência, que até o momento se mantinham inativos (ROMEIRO; GARCIA, 2009). Desta forma, a indução não promove a criação de uma resistência que não existe na planta, mas sim permite a ativação de mecanismos latentes, que são expressos após sua exposição ao produto indutor (VAN LOON; BAKKER; PIETERSE, 1998). Apesar dos indutores não apresentarem atividade antimicrobiana direta, eles atuam igualmente nas moléculas sinalizadoras dos agentes patogênicos. Este fenômeno é citado como uma das principais vantagens do uso de indutores, ou seja, a ausência de atividade antimicrobiana direta, ao contrário dos pesticidas tradicionais, evitando assim, pressões seletivas diretas sobre a população de patógenos (VALLAD; GOODMAN, 2004),

Os eliciadores, também chamados de padrões moleculares, são substâncias de origem sintética ou orgânica, podendo esta última, ser produzida pelo próprio patógeno, planta ou microrganismos não patogênicos (HENRY; THONART; ORGENA, 2012). Eles são classificados em três tipos básicos, sendo denominados de padrões moleculares associados ao patógeno (PAMP), padrões moleculares associados a danos (DAMP) e padrões moleculares associados a microrganismos não patogênicos (MAMP) (VALLAD; GOODMAN, 2004; HENRY; THONART; ORGENA, 2012). PAMPs são em sua maioria, oligossacarídeos, glicopeptídeos e peptídeos provenientes da superfície celular do patógeno ou mesmo proveniente da secreção de proteínas destes, normalmente injetadas no citoplasma (FELIX; BOLLER, 2003; RON; AVNI, 2004). DAMPs são compostos oriundos da própria planta liberados durante o processo de invasão do

patógeno pela ação de enzimas líticas produzidas pelo microrganismo invasor (D'OVIDIO et al., 2004), enquanto MAMPs, são geralmente compostos peptídicos produzidos pelo microrganismo benéfico não patogênico (VITERBO et al., 2007).

Diferentes fatores podem influenciar no sucesso da utilização da indução. Sabe-se que os resultados são dependentes do intervalo de tempo entre o tratamento inicial com o indutor e a inoculação do patógeno, necessário para que a planta reconheça o indutor e ative os mecanismos de defesa, como a síntese e acúmulo de determinados compostos (RYALS et al., 1996). Também, deve-se considerar a concentração do indutor aplicado (CHINNASRI; SIPES; SCHMITT, 2003), espécie botânica e estado nutricional do hospedeiro, tipo de indutor e patógeno envolvido no processo (ASSUNÇÃO et al., 2010).

O estudo da indução de resistência contra nematoides tem sido relatado com maior frequência nos últimos anos (DIAS-ARIEIRA et al., 2013). Atualmente, é possível encontrar trabalhos utilizando diferentes eliciadores contra ampla gama de fitonematoides em distintas culturas, tais como o uso de a Acibenzolar-S-metil (ASM) no controle de *M. incógnita* em tomateiro (MOLINARI; BASER, 2010), fosfito de potássio no controle de *P. brachyurus* em soja e milho (DIAS-ARIEIRA et al., 2012) e *Heterodera avenae* Wollenweber e *Meloidogyne marylandi* Jepson e Golden em trigo e aveia (QUIMETTE; COFFEY, 1990), *Pseudomonas* spp. no controle de *Heterodera trifolii* Goffart em trevo branco (KEMPSTER; DAVIES; SCOTT, 2001), micorrizas no controle de *Xiphinema index* Thorne e Allen em videira (HAO et al., 2012), *Bacillus sphaericus* Meyer e Neide no controle de *Globodera pallida* Stone em batata (HASKY-GÜNTHER; HOFFMANN-HERGARTEN; SIKORA, 1998) e quitosana no controle de *Bursaphelenchus xylophilus* Nickle em pinus (SILVA et al., 2014).

Para a indução de resistência de fitonematoides não há restrições se a cultura é anual ou perene, porém alguns fatores devem ser considerados, entre eles a natureza da interação do patossistema, a genética da planta hospedeira e a necessidade de reativação dos mecanismos de defesa, tendo em vista o efeito temporário do indutor. Além disso, a ausência do efeito tóxico direto do agente indutor sobre o patógeno desafiante está entre os critérios básicos para confirmação da ocorrência de resistência induzida (SALGADO; RESENDE; CAMPOS, 2007).

Dentre as principais respostas de defesa da planta contra nematoides, independente do gênero, encontra-se a ativação de rotas metabólicas envolvidas na biossíntese de fitoalexinas,

aumento da atividade de enzimas, como fenilalanina amônia-liase, peroxidase, polifenoloxidase, superóxido dismutase, deposição de calose e/ou lignina e acúmulo de compostos fenólicos, quitinases e inibidores de proteinases (MAZZAFERA; GANÇAVES; FERNANDES, 1989; SALGADO e SILVA, 2005).

O melhor entendimento das mudanças bioquímicas que levam a planta ao estado de resistência, possibilitará o desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas, as quais expressem maior produção de enzimas de defesa, proporcionando maior nível de resistência a doenças, ou de produtos químicos que atuem estimulando os mecanismos inerente à resistência de plantas (RYALS et al., 1996).

1.1.6 Acibenzolar-S-metil no controle de nematoides sedentários

Um dos indutores sintéticos mais estudados para o controle de fitonematoides é o acibenzolar-S-metil (ASM). Em estudo inicial com nematoides do cisto, não foi observado efeito significativo na aplicação de ASM sobre a população de *H. glycines*, verificando apenas, tendência à redução, quando aplicado ao solo utilizando-se a maior concentração, 0,30 g L⁻¹ (ROCHA et al., 2000). Porém, em outro estudo, o ASM aplicado nas doses de 25, 125 e 250 mg L⁻¹ foi eficiente em reduzir o número de cistos em soja, no entanto estas concentrações causaram sintomas como enrugamento das folhas primordiais (HOFFMANN et al., 2005).

Ao avaliar o efeito do ASM na indução de resistência, objetivando o controle de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood em videira, foi constatado que quando aplicado via pulverização foliar, sete dias antes da inoculação, o indutor promoveu reduções de 40 a 80% no número de galhas e ovos, respectivamente, em relação à testemunha (OWEN; GREEN; DEVERALL, 1998). A resposta de defesa da planta foi acompanhada pelo aumento significativo na atividade da enzima β -1,3-glucanases em raízes de plantas tratadas com ASM, cinco dias após a aplicação desse indutor.

Em outro estudo, avaliando diferentes formas de aplicação e concentrações de ASM, foi verificado que nas concentrações de 180 e 360 ppm (mg g⁻¹ de solo) o indutor proporcionou redução na reprodução do nematoide quando aplicado ao solo (MOLINARI; BASER, 2010). Quanto a aplicado em parte aérea, apenas a maior dosagem do produto (5200 ppm), apresentou redução significativa no número de ovos raiz⁻¹ e reprodução de *M. incognita* em tomateiro. Estudo

semelhante em patossistema *M. incognita*-tomateiro, a aplicação prévia do ASM antes da inoculação promoveu reduções significativas no número de galhas, massas de ovos e ovos g⁻¹ raiz em relação ao controle (SILVA et al., 2002). Nesse estudo, segundo autores, o ASM possivelmente interferiu na formação de células gigantes, por meio de alguma proteína essencial à formação das mesmas, o que afetou a reprodução do nematoide. De forma contrária, estudo envolvendo o patossistema soja-*M. javanica*, foi observado que os tratamentos que receberam aplicações de ASM em parte aérea proporcionaram maior controle do nematoide *M. javanica*, enquanto a aplicação via tratamento de sementes, proporcionou aumento na população do mesmo (BRITO et al., 2016).

Além do conhecimento da dosagem do indutor, o entendimento da melhor época de aplicação, também é necessário e importante. Aplicação foliar de ASM (Bion[®], 50 µg de i.a. mL⁻¹) em videiras afetou o desenvolvimento de espécies de *Meloidogyne* spp. nas raízes, sendo este efeito, verificado três semanas após a inoculação, período este, segundo os autores, ao qual ocorre a interação compatível entre planta e nematoide, em que as células gigantes são induzidas e mantidas no hospedeiro para nutrição e crescimento dos nematoides (OWEN; GREEN; DEVERALL, 2002).

Estudando a aplicação de ASM em soja no controle de *M. javanica*, observou-se uma redução do número de ovos g⁻¹ raiz quando o produto foi aplicado sete dias antes da inoculação em cultivar suscetível, enquanto em cultivar resistente houve redução do mesmo parâmetro quando aplicado sete dias antes ou sete dias após inoculação (PUERARI et al., 2013). Em estudo envolvendo patossistema alface-*M. javanica*, o ASM foi eficiente em controlar a população do nematoide, mesmo quando aplicado cinco dias após inoculação (HERNANDES et al., 2017).

O ASM também foi eficiente no controle de *M. incognita* em duas cultivares de tomate, cv. Kada e cv. Santa Clara, resistente e suscetível ao nematoide, respectivamente (SILVA et al., 2004). O controle foi efetivo quando o produto foi aplicado três dias antes da inoculação ou mesmo sete dias após inoculação, via solo ou pulverização em parte aérea. Neste estudo, também realizou-se aplicações subsequentes do produto, duas ou três reaplicações, mas não houve diferença entre os tratamentos quanto ao número de ovos, diferindo apenas da testemunha. O único tratamento que não apresentou resultado foi a aplicação via solo do ASM aos 14 dias após inoculação.

Em outro estudo com aplicação do produto via solo, foi observado uma redução no número de galhas e massa e ovos g⁻¹ raiz de *M. incognita* em tomateiro 45 dias após inoculação, tal redução

pode ter sido influenciada pela menor nutrição do nematoide pelas células nutridoras, pois em análises histológicas, estas células apresentaram um menor diâmetro, porém o produto não inibiu a penetração e migração do J2 (MELILLO; LEONETTI; VERONICO, 2014). Também foram observados maiores acúmulos de lignina nas células da galha aos dois, três e sete dias após inoculação e, segundo os autores, este processo de lignificação pode ter aumentado a rigidez da parede celular, influenciando negativamente no desenvolvimento dos sítios de alimentação. Curiosamente as células do parênquima, vizinhas ao sítio de alimentação, de raízes tratadas com ASM apresentaram citoplasma denso e bastante contraído, como aquele que ocorre em uma reação de hipersensibilidades, semelhantemente ao observado em células nutridoras de plantas resistentes a nematoides (SILVA et al., 1990).

Pesquisas têm mostrado que o ASM não reduz a formação de galhas, provavelmente porque o produto não inibe a penetração e a indução dos sítios de alimentação, mas sim a reprodução do nematoide (CHINNASRI; SIPES; SCHMITT, 2003; MOLINARI; BASER, 2010). Tal resultado deve-se ao tempo necessário para indução dos mecanismos de resistência na planta, pois estudos mostraram que o ASM não afetou a eclosão, sobrevivência ou penetração de nematoides nas raízes dos hospedeiros (CHINNASRI; SIPES; SCHMITT, 2003; SALGADO; RESENDE; CAMPOS, 2007; MOLINARI; BASER, 2010), mas reduziu o desenvolvimento e a reprodução do mesmo (CHINNASRI; SIPES; SCHMITT, 2003; MOLINARI; BASER, 2010), fato também constatado para outros indutores, como o ácido DL- β -amino-n-butírico (OKA; COHEN, 2001).

Mesmo resultado foi observado quando aplicado 50 μg de a.i. mL^{-1} de ASM em videiras, no qual o produto não afetou na penetração dos juvenis de *Meloidogyne* spp., mas reduziu o número de fêmeas e o número de ovos quando aplicado no mesmo dia da inoculação, sendo esta resistência observada no período de três dias a sete semanas após inoculação e tratamento (OWEN; GREEN; DEVERALL, 2002). No mesmo estudo, foi observado que tanto a aplicação cinco dias antes quanto cinco dias após inoculação, mostrou-se eficiente no controle do nematoide, enquanto os testes *in vitro* provaram que o produto não possui qualquer ação sobre a sobrevivência e movimentação dos juvenis de segundo estágio. Teste semelhante realizado com juvenis de *M. incógnita* mostrou que ao serem mantidos em concentrações inferiores 0,075 g L^{-1} de ASM, o produto apresentou uma baixa toxicidade *in vitro* (SILVA et al., 2004).

Estudos envolvendo a aplicação de ASM objetivando o controle de nematoides sedentários, têm sido correlacionados ao aumento na produção de peróxido de hidrogênio e na atividade de enzimas peroxidase e β -1,3-glucanase (OWEN; GREEN; DEVERALL, 2002; ARYAL et al., 2011; MELILLO; LEONETTI; VERONICO, 2014), entretanto, não há estudos sobre a ação de indutores de resistência na atividade de enzimas de defesa sobre nematoides migradores.

1.1.7 Expressão de enzimas de defesa no controle de nematoides

Como observado no item anterior, a maioria dos estudos envolvendo indução de resistência são referentes a nematoides sedentários endoparasitas, pois o trabalho com nematoides migratórios endoparasitas é dificultado devido sua alta mobilidade no sistema radicular, não estabelecem sítios de alimentação a longo prazo, negando assim, aos pesquisadores, áreas facilmente identificáveis de células de plantas que respondem especificamente à infecção por este grupo de nematoide (BALDRIDGE; O'NEILL; SAMAC, 1998). Entretanto evidências indiretas podem auxiliar no entendimento dos mecanismos de defesa e atividade enzimática de plantas resistentes a nematoides migradores, não apenas restritos ao gênero *Pratylenchus*, devido à restrição de trabalhos neste âmbito, mas também envolvendo a espécie *Radopholus similis* Cobb, uma vez que ambos gêneros apresentam características comuns quanto à movimentação e alimentação, além de pertencerem à mesma família taxonômica (DUNCAN; MOENS, 2006).

A resistência a nematoides frequentemente ocorre devido à capacidade da célula em deter a movimentação e alimentação ou mesmo, através da interrupção na reprodução do parasita pela produção de determinadas substâncias. A maioria destes compostos é obtida por enzimas, tais como fenilalanina amônia-liase (PAL), polifenoloxidase (PPO), peroxidase (POX) e β -1,3 glucanase (GLU), as quais estão envolvidas na síntese de substâncias de baixo peso molecular, fitoalexinas, fenóis, lignina, entre outros (SEENIVASA et al., 2011). Majoritariamente, este processo é observado como resposta de hipersensibilidade que envolve mudanças na atividade enzimática, metabolismo fenólico e deposição de compostos recém sintetizados na parede celular e regulação do radical livre O_2 (GANGULY; DASGUPTA, 1980; ZACHEO et al., 1995).

A reação de hipersensibilidade foi observada durante a infecção de *H. glycines* em *Arabidopsis thaliana* (Linnaeus) Heynhold, planta geralmente não hospedeira deste nematoide, mas que pode apresentar sítios de alimentação. Nestes casos, foram observados intenso

escurecimento das células injuriadas pela migração do nematoide e a necrose das células responsáveis pela formação do síncito (GRUNDLER; SOBCZAK; GOLINOWSKI, 1998).

Reação de hipersensibilidade também foi observada em tomates resistentes infectados com *M. incognita*, no qual observou-se necrose de células próximas ao nematoide, causando sua morte ou saída da raiz. Esta reação ocorreu apenas próxima ao sítio de alimentação, mas não durante a migração do nematoide no sistema radicular (WILLIAMSON, 1998). De acordo com o mesmo autor, a migração e estabelecimento do juvenil de segundo estágio (J2) dura em torno de 12 horas após inoculação, período que coincide com o aumento da atividade da enzima fenilalanina amônia-liase.

Fenilalanina amônia-liase (PAL) é uma enzima responsável por catalisar a primeira reação na rota dos fenilpropanoides convertendo L-fenilalanina em ácido cinâmico. A atividade da PAL tem sido relatada no processo de lignificação, fornecendo precursores do ácido hidroxicinâmico e aumentando a síntese de espécies fenólicas requeridas no processo de defesa, entre os quais são compostos sinalizadores e fitoalexinas. Os produtos obtidos da rota de fenilpropanoides são oriundos do metabolismo secundário da planta, frequentemente chamados de compostos fenólicos, aos quais fazem parte de respostas da planta a danos e doenças (NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992; De ASCENSAO; DUBERY, 2000). Algumas moléculas fenólicas são chamadas de fitoanticipinas, ocorrendo de maneira constitutiva (essencial à célula) e atuando como inibidores pré-formados de agentes patogênicos, enquanto outras são chamadas de fitoalexinas, ao qual possuem sua formação induzida em resposta à infecção por patógenos (VAGANAN et al., 2014).

Estudos sobre interação nematoide planta são frequentemente realizados com gêneros de nematoides endoparasitas sedentários, principalmente *Meloidogyne* spp., e em menor frequência, *Globodera* spp. e *Heterodera* spp. (SOBCZAK et al., 2005; CURTIS, 2008). Nestes têm-se observado uma correlação positiva entre o metabolismo de fenilpropanoides dos hospedeiros e resistência a nematoide (TRUDGILL, 1991). O aumento na atividade da PAL após inoculação com nematoides tem sido constatado em interações com respostas de resistência em batata, tomate ou soja e espécies de nematoides endoparasitas (GIEBEL, 1974; BRUESKE, 1980; EDENS; ANAND; BOLLA, 1995).

Fica evidente que a resistência de plantas a nematoides apresente níveis de transcrição mais altos para as principais enzimas envolvidas na biossíntese de fitoalexinas isoflavonoides (SORIANO et al., 2004). Evidências preliminares foram obtidas através do estudo da resistência de soja a *M. incógnita* e *H. glycines*, no qual foi observado um acúmulo de transcriptomas responsáveis pela codificação de enzimas relacionadas à rota de fenilpropanoides em raízes de soja resistente, enquanto em soja suscetível, foi observado um menor acúmulo destes transcriptomas ou mesmo a falta destes (EDENS; ANAND; BOLLA, 1995).

Anteriormente, foi reportado que raízes de soja resistentes a *M. incógnita* exibiam uma resposta de hipersensibilidade e acúmulo da fitoalexina gliceolina, isoflavonoide oriundo da rota de fenilpropanoides, que de acordo com os autores, age primeiramente inibindo o sistema de transporte de elétrons, porém não inibindo a ação da enzima colinesterase nos juvenis desta espécie, quando testada *in vitro* (KAPLAN; KEEN; THOMASON, 1980a), assim como o rápido acúmulo deste composto no síncito de *H. glycines*, adjacente à região cefálica do nematoide, em cultivar resistente, porém, fato este não observado em cultivar suscetível de soja (KAPLAN; KEEN; THOMASON, 1980b; HUANG; BARKER, 1991). Entretanto, ao ser testado *in vitro* junto à espécie *M. javanica*, esta fitoalexina não apresentou o mesmo efeito nematostático, de modo que o autor sugere a existência de uma diferencial capacidade de absorção deste composto ou diferentes capacidades degradativas do mesmo entre estas duas espécies (KAPLAN; KEEN; THOMASON, 1980b).

Quando lesões necróticas de feijão lima (*Phaseolus lunatus* L.) foram cuidadosamente dessecadas próximas a tecidos não necrosados na presença de *Pratylenchus scribneri* Steiner, foram encontrados os compostos coumestrol e psoralidina, espécies de fitoalexinas produzidas por estas plantas, sendo esta considerada uma má hospedeira ao nematoide. *In vitro*, o coumestrol inibiu a mobilidade de *P. scribneri*, mas esta imobilidade era retomada quando o composto era retirado do meio; contudo esta fitoalexina não teve ação sobre a espécie de *M. javanica* quando submetida ao mesmo ensaio (RICH; KEEN; THOMASON, 1977).

A atividade da PAL também foi relacionada à biossíntese de fenilpropanoides envolvidos na defesa, pela indução destes compostos em raízes de bananeira resistente cv. Yangambi km5 (Ykm5), infectadas com *Radopholus similis* (WUYTS; De WAELE; SWENNEN, 2006). Análises fitoquímicas em raízes de banana cultivar Pisang sipulu infectadas com *R. similis*, identificaram a

presença de fenilfenalenona anigorufona, uma fitoalexina presente em Musaceae, oriunda da rota de fenilpropanoides, produzida em resposta aos danos deste nematoide (COOKE; EDWARDS, 1981; LUIS et al., 1994; COLLINGBORN; GOWEN; MUELLER-HARVEY, 2000).

Estudo semelhante, mostrou significativa diferença na produção de fenilfenalenonas entre duas cultivares de banana, Yangambi km5 e Grande Naine, resistente e suscetível a *R. similis*, respectivamente, no qual maior concentração da fitoalexina anigorufona, entre outras fenilfenalenonas, foram encontradas em lesões radiculares, de menor diâmetro, em cultivar Yangambi km5 do que em lesões de maior diâmetro presentes em raízes da cultivar Grande Naine (HÖLSCHER et al., 2014).

Quando realizado teste *in vitro*, as fitoalexinas anigorufona e hidroxianigorufona, apresentaram atividade nematostática sobre *R. similis* em todos períodos testados, chegando a imobilizar 89,1 e 68,7% dos nematoides após 78 horas, respectivamente. Apesar de ambas cultivares produzirem estas duas fitoalexinas após a penetração de *R. similis*, o autor destaca que a produção em baixas concentrações observada na cultivar suscetível (Grande Naine), não foi eficiente em imobilizar o nematoide, permitindo que o mesmo continuasse a se alimentar e invadir os tecidos vizinhos ao ponto de infecção, criando lesões maiores (HÖLSCHER et al., 2014). Neste mesmo estudo *in vitro*, foi observado que após absorvido, a anigorufona é convertida de lipídios no interior do corpo do nematoide, possivelmente afetando o sistema regulatório lipídico. Este lipídio encontra-se aglomerado em partículas que se alargam, porém, não ocorrendo a expansão do corpo do nematoide, limitando o espaço disponível para os órgãos internos e processos biológicos essenciais.

Estudo envolvendo cultivares de trigo suscetível e resistente a *Pratylenchus thornei* Sher e Allen, demonstrou supressão da migração, desenvolvimento e reprodução destes nematoides em raízes de plantas resistentes, porém a penetração em ambos tipos de plantas foi estatisticamente igual, o que demonstra a ação destes mecanismos de resistência após o processo de infecção, assim como houve redução na deposição de ovos por fêmea e eclosão de *P. thornei* quando submetidos a exsudatos destas cultivares resistentes (LINSELL, 2014). Os autores acreditam haver a presença de uma alta concentração de composto inibitórios, tanto nas raízes como nos exsudatos das cultivares de trigo resistente, aos quais reduzem a movimentação e alimentação do nematoide, restringindo seu desenvolvimento e produção de ovos. Tais compostos possuem ação apenas

nematostática, já que houve retomada na atividade do nematoide quando os exsudatos foram removidos do meio, porém tais composto não tiveram qualquer ação inibitória sobre a espécie *Pratylenchus neglectus* (Rensch) Filipjev e Schuurmans Stekhoven.

Outro estudo de resistência realizado com cultivares de alfafa a *Pratylenchus penetrans* (Cobb) Chitwood e Oteifa, mostrou aumento, quatro dias após a infecção do nematoide, na transcrição de RNAm relacionada a rota do fenilpropanoides e responsáveis pela codificação da enzima fenilalanina amônia-liase em cultivares resistentes, quando comparadas as suscetíveis. Além disso também foi observado aumento na indução de transcriptomas relacionadas a enzima β -1,3-glucanase e a fitoalexina medicarpina em cultivares resistentes ao nematoide, esta última, quando estudada *in vitro*, foi responsável pela redução na mobilidade do nematoide (BALDRIDGE; O'NEILL; SAMAC, 1998).

O acúmulo de fenóis pode ocorrer devido a excessiva produção de peróxido de hidrogênio ou pelo aumento da respiração (FARKAS; KRALY, 1962) ou devido a ativação rota hexose-monofosfato, rota do acetato ou pela liberação de fenóis por enzimas hidrolíticas (GOODMAN; KRALY; ZIATLIN, 1967; SEENIVASAN, 2011). Muitos destes compostos fenólicos, especialmente as formas oxidadas, são tóxicas, repelindo ou afetando negativamente o desenvolvimento juvenis de nematoides, agindo como uma barreira mecânica à penetração do nematoide (SELIM et al., 2014).

Todas as porções fenólicas são geradas através da rota biosintética da via dos fenilpropanoides, por uma série de reações de hidroxilação, metilação e desidratação do ácido cinâmico, ao qual é oriundo da fenilalanina pela ação da enzima PAL, envolvida no ponto de ramificação entre a via primária do ácido chiquímico e a via secundária dos fenilpropanoides (LEWIS; YAMAMOTO, 1990; DIXON; HARRISON; LAMB, 1994). Os ácidos fenólicos presentes nas células vegetais estão usualmente conjugados a açúcares, outros carboidratos presentes na parede celular, ácidos orgânicos e nos complexos polímeros de lignina da parede celular são formados a partir destes fenilpropanoides e ésteres (DIXON; PAIVA, 1995; WHETTEN; SEDEROFF, 1995). Em estudo com tomateiro, foi observado correlação positiva entre resistência a *M. incógnita* e presença de fenóis no sistema radicular (BAJAJ; ARORA; MAHAJAN, R et al., 1983).

Na interação patógeno hospedeiro entre *Musa* spp. e nematoides, foram observados elevado acúmulo de compostos fenólicos e proantocianidinas (FOGAIN; GOWEN, 1996; COLLINGBORN; GOWEN; MUELLER-HARVEY, 2000), indução de fitoalexinas do tipo fenalenona (LUIS, 1998) e aumento na lignificação das paredes celulares de raízes de cultivares de bananas resistentes a *R. similis* (VALETTE et al., 1998; WUYTS et al., 2007). No caso da interação entre *Pratylenchus coffeae* Goodey e *Musa* spp. observou-se um aumento no teor de fenóis e enzimas oxidativas de fenóis em raízes de plantas resistentes ao nematoide (SUNDARARAJU; SUBA, 2006; DEVI et al., 2009).

Estudo realizado também em *Musa* spp. demonstraram que as enzimas provenientes da rota fenilpropanoides, metabólitos fenólicos e polímeros fenólicos de lignina possuem um papel importante na resistência de bananeiras a *P. coffeae*, sendo observadas através de um significativo aumento nos níveis de atividade da enzima PAL, álcool cinamílico desidrogenase (CAD) e a rápida produção e deposição de lignina e fenilpropanoides ligados à parede celular em raízes de cultivares resistente de bananeira após a infecção pelo nematoide (VAGANAN et al., 2014). CAD é a enzima chave na rota de lignificação, catalisando o processo final na síntese de monolignóis, convertendo assim os cinamaldeídos em álcoois (WHETTEN; SEDEROFF, 1995), sendo considerado um indicador da biossíntese de lignina (WALTER et al., 1988; FERRER et al., 2008), podendo ser regulada por condições de estresse ou ataque de patógenos (CAMPBELL; ELLIS, 1992; FOGAIN; GOWEN, 1996)

Em cultivares de bananeira resistente a *R. similis*, foi observado a presença de flavonoides e ésteres cafeicos em células do parênquima e tecidos vasculares e ácido felúrico nas paredes de células do parênquima de raízes, não sendo detectado em plantas suscetíveis. Apesar destes compostos não terem sua atividade nematicida testada *in vitro*, os autores acreditam que estes compostos possam criar um ambiente tóxico para entrada e multiplicação do nematoide. Além disso, também foi observado aumento na lignificação e suberização da endoderme, restringindo a penetração e multiplicação do patógeno nos tecidos vasculares (VALETTE et al., 1998). O acúmulo anormal de flavonoides dentro da parede celular e lamela média pode ter contribuído reforçando as estruturas da parede celular através da ação de enzimas peroxidases, aos quais foram encontradas em maior atividade em cultivares de banana resistentes quando comparadas às suscetíveis (MATEILLE, 1994).

A esterificação de ácidos fenólicos e a ligação destes tipos de ésteres a polissacarídeos, formando os polímeros de lignina na parede celular primária dos hospedeiros, tem sido considerada uma barreira química de defesa a patógenos, servindo também como molde para posterior esterificação e lignificação da parede celular (BECKMAN; MULLER, 1970). A lignina é composta de metabólicos fenólicos aromáticos que são ativamente depositados na parede celular durante o processo de infecção como mecanismo de resistência a penetração do patógeno (BOUDET; LAPIERRE; GRIMA-PETTENATI, 1995). Em estudos histológicos do sistema radicular de acessos de banana resistentes a *P. coffeae*, foi observado alto número de compostos fenólicos e células lignificadas, prevenindo a entrada do nematoide no córtex, mantendo a integridade destas células, enquanto em cultivares suscetíveis, foram observados maiores números de cavidades no parênquima cortical, com deformação destas células devido à penetração do nematoide (DEVI et al., 2009).

Outra enzima importante no fenômeno de resistência sistêmica é a peroxidase (POX), a qual atua na polimerização de compostos fenólicos, formação de ligações cruzadas entre extensinas, lignina e polissacarídeos, assim como, na catálise do processo final de biossíntese de lignina, através da polimerização do álcool cinnamil (GOLDBERG et al., 1985; ESPELIE; FRANCESCHI; KOLATTUKUDY, 1986). A POX promove a catálise da oxidação de compostos fenólicos, oriundos da rota de fenilpropanoides, pela redução do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), sendo funcional a uma ampla gama de processos fisiológicos normais ou relacionados ao estresse, incluindo lignificação e suberização (ROBB et al., 1991; PASSARDI; PENEL; DUNAND, 2004). A fortificação da lignina e suberina presentes nas paredes celulares, tornam-nas potencialmente mais resistentes a forças de compressão ou à degradação por enzimas hidrolíticas provenientes dos patógenos (WUYTS; De WAELE; SWENNEN, 2006).

Soma-se às enzimas citadas anteriormente, a polifenoloxidase (PPO), responsável pela catálise da o-hidroxilação de monofenóis a o-difenóis e pela oxidação de o-difenóis em o-quinonas, compostos de alta toxicidade, ao qual rapidamente polimeriza produzindo pigmentos escuros e marrons (DAS et al., 2010). Em tecidos saudáveis, a PPO encontra-se localizada nos plasmídeos, e quando submetido a injúrias, pelo processo de alimentação ou infecção, a compartimentalização celular é perdida e a PPO pode reagir sobre os substratos fenólicos, oriundos dos vacúolos. Estes polifenóis são responsáveis pelo escurecimento dos tecidos durante a formação das lesões,

limitando infecções secundárias e a propagação dos agentes patogênicos (VAUGHN; DUKE, 1984).

Um importante papel das enzimas polifenoloxidase é de oxidar polifenóis e complexos fenólicos. A maioria dos fenóis ocorrem ligados aos tecidos da planta contendo mono e polifenóis. O acúmulo de monofenóis é um importante critério para determinação de resistência (GIEBEL, 1974). Mesmo havendo menor acúmulo de compostos fenólicos em cultivares resistentes de banana a nematoides, também foi observado alta atividade da enzima polifenoloxidase, a qual, possivelmente, foi responsável pela oxidação dos polifenóis e um maior acúmulo de monofenóis, sendo estes responsáveis pela resposta de resistência (SUNDARARAJU; SUBA, 2006).

Foi observado aumento na produção de fenóis e lignina e na atividade das enzimas polifenoloxidase (PPO), peroxidase (POX) e fenilalanina-amônia liase (PAL) em raízes de banana resistentes a *R. similis*, principalmente aos sete dias após inoculação (SANKAR et al., 2017). Resultados semelhantes, foram observados em estudos de mutantes resistentes e tolerantes de banana a *P. coffeae*, sendo observado maior atividade PAL, POX e PPO, quando comparados às cultivares suscetíveis (KUMAR et al., 2008). A enzima peroxidase também pode ter sua expressão aumentada tanto em cultivares suscetíveis como resistentes de banana quando inoculadas com *P. coffeae*, porém a expressão foi significativamente maior em acessos diploides resistentes (DEVI et al., 2007).

Hoje sabe-se que a enzima peroxidase, além reduzir a concentração de peróxido de hidrogênio, também é responsável por tornar o conteúdo celular tóxico e extremamente desfavorável ao patógeno pela regulação da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio (PASSARDI et al., 2005; SCHAFFER; BRONNIKOVA, 2012). Porém, recentes transcriptomas obtidos de *P. thornei* e *P. coffeae* evidenciaram que nematoides do gênero *Pratylenchus* secretam componentes antioxidantes que geralmente metaboliza ROS. Dentre estes compostos, incluem as enzimas superóxido dismutase e peroxiredoxinas, enzimas estas, também observadas em nematoide parasitas de animais, as quais podem reduzir o peróxido de hidrogênio presente na superfície do nematoide, função semelhantemente observada para a enzima glutathione peroxidase, conhecida por ser secretada pela hipoderme de *Globodera rostochiensis* Wollenweber (JONES et al., 2004; JONES; FOSU-NYARKO, 2014).

1.1.8 Ativação de defesas no controle de *P. brachyurus*

Dentre das pesquisas com indutores de resistência para o manejo de *Pratylenchus* spp., foi observado que o fosfito de potássio foi eficiente em reduzir a população do nematoide em milho (DIAS-ARIEIRA et al., 2012), o que possivelmente ocorreu devido à capacidade do fosfito estimular mecanismos de autodefesa em plantas, como a produção de fitoalexinas (DERCKES; CREASY, 1989). No patossistema soja e *P. brachyurus*, a aplicação do produto comercial Soil-Set® (Alltech) em parte aérea, promoveu a redução no número total de nematoides e nematoide g⁻¹ raiz, independente do período avaliado (MIAMOTO et al., 2017). Os autores acreditam que o Mn⁺², presente na composição do produto, possa ter estimulado a atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase e peroxidase, enzimas estas responsáveis pela síntese de lignina, proporcionando o aumento na resistência (MARSCHNER, 2012).

O ASM foi eficiente no manejo de populações mistas, composta por *Meloidogyne* e *Pratylenchus* em cana-de-açúcar (CHAVES et al., 2004). Porém, em outro trabalho, não foi eficiente em controlar *Pratylenchus zae* Graham na mesma cultura (CHAVES et al., 2012). O produto silicato de potássio também não apresentou resultados positivos quanto ao controle de *P. zae*, 100 dias após o transplante de cana (GUIMARÃES et al., 2008).

Em estudos com a espécie *P. brachyurus*, ASM aplicado via tratamento de semente (TS), parte aérea (PA) e TS + PA, foi eficiente em reduzir a população do nematoide em milho, quando comparados à testemunha, não havendo diferença estatística entre os tratamentos, apenas nas doses que melhor reduziram o número de nematoide g⁻¹ raiz, 0,6, 0,51 e 0,65 g i.a. L⁻¹, respectivamente, não afetando o desenvolvimento vegetativo (CARDOSO et al., 2016). Também, quando aplicado em parte aérea, 30 dias após semeadura de soja, ASM foi eficiente em reduzir a população de nematoides tanto no sistema radicular da planta (62,5 a 69,77%), quanto no solo (62,5 a 69,77%) artificialmente infestado com população estimada em 500 espécimes de *P. brachyurus* planta⁻¹ por 60 dias (HOMIAK et al., 2017).

ASM quando aplicado em cultivares de milho resistente e suscetível à *P. brachyurus* foi eficiente em reduzir a população do nematoide em ambas cultivares, independente da época de aplicação. O produto Ecolife® promoveu a redução do nematoide apenas na cultivar resistente, enquanto para o fosfito de manganês os resultados foram variáveis (PUERARI et al., 2015). O Ecolife®, de acordo com informações do fabricante, é um composto de biomassa cítrica, que

contem polifenóis, flavonoides, fitoalexinas e ácidos orgânicos diluídos, sendo também citado por possuir substâncias que provocam alterações no metabolismo das plantas, auxiliando na prevenção de doenças (MOTOYAMA et al., 2003).

Apesar da eficiência de alguns compostos ativadores de resistência no controle de *P. brachyurus*, ainda não há estudos que demonstrem como este produto atua na planta, promovendo assim a redução na população deste nematoide.

1.1.9 Referências bibliográficas

AHMED, N.; ABBASI, M. W.; SHAUKAT, S. S.; ZAKI, M. J. Induced systemic resistance in mung bean plant against root-knot Nematode *Meloidogyne javanica* by dl-β-amino butyric acid. **Nematology Mediterranea**, v. 37, p. 67-72, 2009.

ALVES, P. V. V. **Nematoides Associados à Cultura da Soja na Região Integrada de Desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno (RIDE)**. 2015. 66 p.: il. Dissertação de mestrado em Fitopatologia. Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília. 2015.

ARYAL, S. K.; DAVIS, R. F.; STEVENSON, K. L.; TIMPER, P.; JI, P. Influence of infection of cotton by *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne incognita* on the production of enzymes involved in systemic acquired resistance. **Journal of Nematology**, v. 43, n.3-4, p. 152-159, 2011.

ASSUNÇÃO, A.; SANTOS, L. C.; ROCHA, M. R.; REIS, A. J. S.; TEIXEIRA, R. A.; LIMA, F. S. O. Efeito de indutores de resistência sobre *Meloidogyne incognita* em cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). **Nematologia Brasileira**, v. 34, n. 1, p. 56-62, 2010.

BAJAJ, K. L.; ARORA, Y. K.; MAHAJAN, R. Biochemical differences in tomato cultivars resistant and susceptible to *M. incognita*. **Review of Nematology**, v. 6, p. 143-145, 1983.

BALDRIDGE, G. D.; O'NEILL, N. R.; SAMAC, D. A. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) resistance to the root-lesion nematode, *Pratylenchus penetrans*: defense response gene mRNA and isoflavonoid phytoalexin levels in roots. **Plant Molecular Biology**, v. 38, p. 999-1010, 1998.

BARROS, G. S. de C.; ALVES, L. R. A. Milho. **Visão Agrícola**, Esalq, USP, v. 13, ano 9, 176 p., 2015.

BECKMAN, C. H.; MUELLER, W. C. Distribution of phenols in specialized cells of banana roots. **Phytopathology**, v. 60, p. 79-82, 1970.

BELLÉ, C.; LIMA-MEDINA, I.; KASPARY, T. E.; KUHN, P. R. Host suitability of weeds to *Pratylenchus brachyurus* in Northwest of Rio Grande do Sul, Brazil. **Nematropica**, v. 45, p. 144-149, 2015.

BENHAMOU, N.; BELANGER, R. R. Induction of systemic resistance to *Pythium* damping-off in cucumber plants by benzothiadiazole: ultrastructure and cytochemistry of the host response. **Plant Journal**, v. 14, n. 1, p. 13-21, 1998.

BERGESON, G. N. Control of the lesion nematode (*Pratylenchus* spp.) in corn with carbofuran. **Plant Disease Reporter**, v. 62, p. 295-297, 1978.

BIELA, F.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; MACHADO, A. C. Z.; SANTANA-GOMES, S. M.; CARDOSO, M. R.; HERNANDES, I.; MATTEI, D. Host status and phenotypic diversity of rice genotypes in relation to *Pratylenchus brachyurus* resistance. *Nematology*, v. 18, n. 1, p. 15-21, 2016. DOI: 10.1163/15685411-00002938

BORGES, D. C.; MACHADO, A. C. Z.; INOMOTO, M. M. Reação de aveias a *Pratylenchus brachyurus*. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 3, p. 178-181, 2010.

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

BOUDET, A. M.; LAPIERRE, C.; GRIMA-PETTENATI, J. Biochemistry and molecular biology of lignification. **New Phytologist**, v. 129, p. 203-236, 1995.

BRAZ, G. B. P.; OLIVEIRA, J. R. R. S.; CONSTANTIN, J.; RAIMONDI, R. T.; RIBEIRO, L. M.; GEMELLI, A.; TAKANO, H. K. Plantas daninhas como hospedeiras alternativas para *Pratylenchus brachyurus*. **Summa Phytopathologica**, v.42, n.3, p.233-238, 2016.

BRIDGE J.; STARR J. L. **Plant Nematodes of Agricultural Importance**. Ed. Manson Publishing Ltd.: London, UK, 2007, 152 p.

BRIDGE, J. Controle strategies in subsistence agriculture. In: BROWN, R. H.; KERRY, B. R. (Eds) **Principles and practice of nematode control crops**. Academic Press, New York, p. 389-420, 1987.

BRITO, O. D. C.; PUERARI, H. H.; HERNANDES, I.; FERREIRA, J. C. A.; CARDOSO, M. R.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Application methods and concentrations of acibenzolar-S-methyl to *Meloidogyne javanica* management in soybean. **Nematropica**, v. 46, p. 106-113, 2016.

BRUESKE, C. H. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato roots infected and resistant to the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Physiology and Plant Pathology**, v.16, p. 409-414, 1980.

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

CAMPBELL, M. M.; ELLIS, B. E. Fungal elicitor-mediated responses in pine cell cultures. I. Induction of phenylpropanoid metabolism. **Planta**, v. 186, p. 409-417, 1992.

CARDOSO, M. R.; PUERARI, H. H.; HERNANDES, I.; BRITO, O. D. C.; FERREIRA, J. C. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Acibenzolar-S-methyl doses and application methods to *Pratylenchus brachyurus* control in maize. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science**, 2016, p. 1-6. DOI: 10.1080/09064710.2016.1215514

CASÃO J., R.; ARAÚJO, A. G.; LLANILLO, R. F. **Plantio Direto no Sul do Brasil: Fatores que facilitaram a evolução do sistema e o desenvolvimento da mecanização conservacionista**. Londrina: IAPAR/FAO, 2012. 77 p.

CASTILLO, P.; VOVLAS, N. **Pratylenchus (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management**. Nematology monographs and perspectives. In: HUNT, D. J.; PERRY, R. N. (Eds.), Leiden, The Netherlands: Brill., cap. 6, p. 529, 2007.

CAVALCANTE, M. J. B.; SHARMA, R. D.; VALENTIM, J. F.; GONDIM, T. M. S. Nematóides associados ao amendoim forrageiro e a bananeira no estado do acre. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 107-107, 2001.

CHAVES, A.; PEDROSA, E. M. R.; COELHO, R. S. B.; GUIMARÃES, L. M. P.; MARANHÃO, S. R. V. L.; DA GAMA, M. A. S. Alternativas para o manejo integrado de fitonematoides em cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.7, p.73-80, 2012.

CHAVES, A.; PEDROSA, E. M. R.; GUIMARÃES, L. M. P.; MARANHÃO, S. R. V.; SILVA, I. L. S. S.; MOURA, R. M. Indução de resistência a nematóides em cana-de-açúcar cultivada em solo de áreas que apresentam declínio de desenvolvimento em tabuleiros nordestinos. **Fitopatologia Brasileira**, v.29S, p.142, 2004.

CHIAMOLERA, F. M.; DIAS-ARIEIRA C. R.; SOUTO E. R.; BIELA F.; CUNHA T. P. L.; SANTANA, M. S.; PUERARI, H. H. Suscetibilidade de culturas de inverno a *Pratylenchus brachyurus* e atividade sobre a população do nematoide na cultura do milho. **Nematropica**, v.42, p.267-275, 2012.

CHINNASRI, B.; SIPES, B. S. SCHMITT, D. P. Effects of acibenzolar-S-methyl application to *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 35, p. 110-114, 2003.

CHOUDHARRY, D. K.; PRAKASH, A.; JOHRI, B. N. Induced systemic resistance (ISR) in plant: mechanism of action. **Indian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 289-297, 2007.

COLLINGBORN, F. M. B.; GOWEN, S. R.; MUELLER-HARVEY, I. Investigations into the biochemical basis for nematode resistance in roots of three *Musa* cultivars in response to *Radopholus similis* infection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 11, p. 5297–5301, 2000.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra Brasileira de grãos**. Safra 2015/2016, v. 1, n. 12, 184 p., 2016.

COOKE, R. G.; EDWARDS, J. M. Naturally occurring phenalenones and related compounds. **Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe**, v. 40, p. 153–190, 1981.

COSTA, R. V. da; CASELA, C. R.; COTA, L. V. **Doenças**. In: Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de produção 2: Cultivo do milho. 5. ed. Sete Lagoas, 2009. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_5_ed/doencas.htm>. Data de acesso: 24 jun. 2017.

CRUZ, J. C.; MAGALHÃES, P. C.; PEREIRA-FILHO, I. A.; MOREIRA, J. A. A. **Milho: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, DF, 2011. 338 p.

CURTIS, R. H. C. Plant-nematode interactions: Environmental signals detected by the nematode's chemosensory organs control changes in the surface cuticle and behaviour. **Parasite Journal**, v.15, p. 310-316, 2008.

D'OIDIO, R.; MATTEI, B.; ROBERTI, S.; BELLINCAMPI, D. Polygalacturonases, polygalacturonase-inhibiting proteins and pectic oligomers in plant-pathogen interactions. **Biochim. Biophys. Acta Proteins Proteomics**, v. 1696, p. 237-244, 2004.

DAS, S. C.; BALAMOCHAN, T. N.; POORNIMA, K.; SEENIVASAN, N.; BERGH, V. D.; De WAELE, D. Reaction of *Musa* hybrids to the burrowing nematode, *Radopholus similis*. **Indian Journal of Nematology**, v. 40, n. 2, p. 189-197, 2010.

De ASCENSAO, A. R.; DUBERY, I. A. Panama disease: Cell wall reinforcement in banana roots in response to elicitors from *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense race four. **Phytopathology**, v. 90, n. 10, p. 1173-1180, 2000.

De WAELE, E.; LOOTS, G. C.; HEYNS, J. Observations on the effect of maize roots on the hatching of *Pratylenchus zeae* and *P. brachyurus*. **Phytophylactica**, v. 20, p. 135-137, 1988.

De WAELE, E.; LOOTS, G. C.; WOLMARANS, C. T. Chemical factors of maize root exudates and their influence on the hatching of *Pratylenchus zeae* eggs. **Phytophylactica**, v. 21, p. 201-203, 1989.

DEBIASI, H.; MORAES, M. T. de; FRANCHINI, J. C.; DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V.; RIBAS, L. N. **Manejo do solo para controle cultural do nematoide das lesões radiculares na entressafra da soja**. In: XXXIII Congresso Brasileiro de Ciências do Solo. *Anais...*Uberlândia, Minas Gerais, 2011, p. 4.

DENARDIN, J. E.; KOCHHANN, R. A.; BACALTCHUK, B.; SATTLER, A.; DENARDIN, N. D.; FAGANELLO, A.; WIETHÖLTER, S. **Sistema plantio direto: fator de potencialidade da agricultura tropical brasileira**. Passo Fundo: CNPT/Embrapa, 2008. 23 p.

DEVI, A. N.; PONNUSWAMI, V.; SUDARARAJU, P.; BERGH, I. V. den; KAVINO, M. Histopathological Changes in Banana Roots Caused by *Pratylenchus coffeae*, *Meloidogyne incognita* and *Radopholus similis*, and Identification of RAPD Markers Associated with *P. coffeae* Resistance. **Acta Horticulture**, v. 828, p. 283-290, 2009. DOI: 10.17660/ActaHortic.2009.828.28

DEVI, A. N.; PONNUSWAMI, V.; SUNDARARAJU, P.; SOORIANATHASUNDARAM, K.; SATHIAMOORTHY, S.; UMA, S.; VAN DEN BERGH, I. Mechanism of resistance in banana cultivars against root lesion nematode, *Pratylenchus coffeae*. **Indian Journal of Nematology**, v. 37, p. 138–144, 2007.

DIAS, W. P.; ASMUS, G. L.; SILVA, J. F. V.; GARCIA, A.; CARNEIRO, G. E. S. Nematoides. In: ALMEIDA, A. M. R.; SEIXAS, C. D. S. (ed). **Soja: doenças radiculares e de hastes e inter-relações com o manejo do solo e da cultura**. Londrina-PR: Embrapa Soja, 2010. p. 173-206, 2010.

DIAS, W. P.; ORSINI, I. P.; RIBEIRO, N. R.; PARPINELLI, N. M. B.; FREIRE, L. L. **Efeito do cultivo de espécies vegetais sobre a população de *Pratylenchus brachyurus* na soja**. In: VI Congresso Brasileiro de Soja. *Anais...*Cuiabá, Mato Grosso, 2012, p. 4.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; MARINI, P. M.; FONTANA, L. F.; ROLDI, M.; SILVA, T. R. B. Effect of *Azospirillum brasilense*, Stimulate[®] and potassium phosphite to control *Pratylenchus brachyurus* in soybean and maize. **Nematropica**, v. 42, n. 1, p.170-175, 2012.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; SANTANA-GOMES, S. M.; PUERARI, H. H.; FONTANA, L. F.; RIBEIRO, L. M.; MATTEI, D. Induced resistance in the nematodes control. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 20, p. 2312-2318, 2013.

DIXON, R. A.; HARRISON, M. J.; LAMB, C. J. Early events in the activation of defense responses. **Annual Review Phytopathology**, v. 32, p. 479, 1994.

DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **Plant Cell**, n. 7, p. 1085, 1995.

DOEBLEY, J. The genetics of maize evolution. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 38, p. 37-59, 2004.

DUNCAN, L. W., MOENS, M. Migratory endoparasite nematodes. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. (Eds). **Plant nematology**. Wallingford, UK, CABI Publishing, 2006, p. 123-152.

DURRANT, W. E.; DONG, X. Systemic Acquired Resistance. **Annual Review Phytopathology**, v. 42, n. 1, p. 185-209, 2004.

EDENS, R. M.; ANAND, S. C.; BOLLA, R. I. Enzymes of phenylpropanoid pathway in soybean infected with *Meloidogyne incognita* or *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 27, p. 292–303, 1995.

EGUNJOBI, O. A. Nematodes and maize growth in Nigeria. II, Effects of some amendments on populations of *Pratylenchus brachyurus* and on growth and production of maize (*Zea mays* L.) in Nigeria. **Nematologia Mediterranea**, v. 3, p. 5-73, 1974.

ESPELIE, K. E.; FRANCESCHI, V.; KOLATTUKUDY, P. E. Immunocytochemical localization and time course of appearance of an anionic peroxidase associated with suberization in wound-healing potato tuber tissue. **Plant Physiology**, v. 81, p. 487-492, 1986.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations); IPGRI (International Plant Genetic Resource Institute). **The role of women in the conservation of the genetic resources of maize Guatemala**. 2002, 64 p. Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/004/y3841e/y3841e00.pdf>>. Data de acesso: 04 de jun. 2017.

FARKAS, G. L.; KIRLAY, Z. Role of phenolic compounds in the physiology of plant disease resistance. **Phytopathologische Zeitschrift**, v. 44, p. 105-150, 1962.

FARNHAN, D. E.; BENSON, G. O.; PEARCE, R. B. Corn perspective and culture. Chapter 1. In: WHITE, P. J.; JOHNSON, L. A. eds. **Corn: chemistry and technology**. 2nd ed. American Association of Cereal Chemicals, Inc. Paul, Minesota, USA, 2003, p. 1-33.

FELIX, G.; BOLLER, T. Molecular sensing of bacteria in plants. The highly conserved RNA-binding motif RNP-1 of bacterial cold shock proteins is recognized as an elicitor signal in tobacco. **Journal of Biology and Chemistry**, v. 278, p. 6201-6208, 2003.

FERRER, J. L.; AUSTIN, M. B.; STEWART, C. J. NOEL, J. P. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids, **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 46, p. 356, 2008.

FOGAIN, R. GOWEN, S. R. Investigations on possible mechanisms of resistance to nematodes in *Musa*, **Euphytica**, v. 92, p. 375, 1996.

FRANZENER, G.; MARTINEZ-FRANZENER, A.S.; STANGARLIN, J.R.; FURLANETTO, C.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Proteção de tomateiro a *Meloidogyne incognita* pelo extrato aquoso de *Tagetes patula*. **Nematologia Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 27-36, 2007.

FU, Z. Q.; DONG, X. Systemic Acquired Resistance: Turning local infection into global defense. **Annual Review Plant Biology**, v. 64, p. 839-863, 2013.

FUNDAÇÃO RIO VERDE - Fundação de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico Rio Verde. 2014. **Levantamento populacional de espécies de nematoides na cultura da soja na região do**

médio norte do Mato Grosso. Disponível em: <<https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjU3pPNyIzWAhWJYyYKHXV3BSoQFggsMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.fundacaorioverde.com.br%2Fpublicacoes%2F68&usq=AFQjCNFB4dERI4W0NEMePc6EZc1O STWNtg>>. Data de acesso: 29 de ago. 2017.

GANGULY, A. K.; DASGUPTA, D. R. Purification and some properties of peroxidase from resistant and susceptible varieties of *Lycopersicon esculentum* infested with root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Indian Journal of Nematology**, v. 21, p. 113-122, 1980.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna, São Paulo: Embrapa Meio Ambiente, 2000.

GIEBEL, J. Biochemical mechanism of plant resistance to nematodes. **Journal of Nematology**, v. 6, p. 175-181, 1974.

GOLDBERG, R.; LÊ, T.; CATESSON, A. M. Localization and properties of cell wall enzyme activities related to the final stages of lignin biosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 36, n. 3, p. 503-510, 1985. DOI: 10.1093/jxb/36.3.503

GONZAGA V.; SANTOS, J. M.; MENDONÇA, R. S.; SANTOS, M. A. Gênero *Pratylenchus*. In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S. **Diagnose de fitonematoides**. Ed. Millennium: Campinas, SP, 2016, p. 367.

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

GOODMAN, R. N.; KIRALY, E.; ZIATLIN, M. **The biochemistry and physiology of infectious plant diseases**. Van Nostrand: Princeton, New Jersey, 1967, p. 354.

GRUNDLER, F. M. W.; SOBCZAK, M.; GOLINOWSKI, W. Formation of wall openings in root cells of *Arabidopsis thaliana* following infection by the plant-parasitic nematode *Heterodera schachtii*. **European Journal Plant Pathology**, v. 104, p. 545-551, 1998.

GUIMARÃES, L. M. P.; PEDROSA, E. M. R.; COELHO, R. S. B.; CHAVES, A.; MARANHÃO, S. R. V. L.; MIRANDA, T. L. Efeito de metil jasmonato e silicato de potássio no parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zae* em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v.32, p.50-55, 2008.

HAO, Z.; FAYOLLE, L.; TUINEN, D. V.; CHATAGNIER, O.; LI, X.; GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON. Local and systemic mycorrhiza-induced protection against the ectoparasitic nematode *Xiphinema index* involves priming of defence gene responses in grapevine. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 10, p. 3657-3672, 2012. DOI: 10.1093/jxb/ers046

HASKY-GÜNTHER, K.; HOFFMANN-HERGARTEN, S.; SIKORA, R. A. Resistance against the potato cyst nematode *Globodera pallida* systemically induced by the rizhobacteria *Agrobacterium radiobacter* (G12) and *Bacillus sphaericus* (B43). **Fundamental and Applied Nematology**, v. 21, n.5, p. 511-517, 1998.

HENRY, G; THONART, P.; ORGENA, M. PAMPs, MAMPs, DAMPs and others: an update on the diversity of plant immunity elicitors. **Biotechnology, Agronomy, Society and Environmental Journal**, v. 16, n. 2, p. 257-268, 2012.

HERNANDES, I.; BRITO, O. D. C.; CARDOSO, M. R; FERREIRA, J. C. A.; PUERARI, H. H.; Dias-Arieira, C. R. Acibenzolar-S-methyl on *Meloidogyne javanica* control in lettuce, **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science**, 2017, v. 67. DOI: 10.1080/09064710.2017.1329453

HOFFMANN, L. V.; CARDOSO, E.; NOGUEIRA, B. Effect of BTH on soybean plants infected by *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952 and *Meloidogyne javanica* (Treub., 1885) Chitwood, 1949. **Summa Phytopatologica**, v.31, n.1, p. 9-13, 2005.

HOMIAK, J. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; COUTO, E. A. A.; KATH, J.; ABE, V. H. F. Seed treatments associated with resistance inducers for management of *Pratylenchus brachyurus* in soybean. **Phytoparasitica**, v. 45, p. 243-250, 2017. DOI: 10.1007/s12600-017-1575-0

HÖLSCHER, D.; DHAKSHINAMOORTHY, S. ; ALEXANDROVD, T.; BECKERH, M.; BRETSCHNEIDERI, T.; BUERKERTB, A.; CRECELIUSJ, A. C.; WAELEC, DE D.; ELSENL, A.; HECKELM, D. G.; HEKLAUN, H.; HERTWECKI, C.; KAIO, M.; KNOPI, K.; KRAFFTP, C.; MADDULAO, R. K.; MATTHÄUSP, C.; POPPP, J.; SCHNEIDERA, B.; SCHUBERTJ, U. S.; SIKORAS, R. A.; SVATOSO, A.; SWENNENC, R. L. Phenalenone-type phytoalexins mediate resistance of banana plants (*Musa* spp.) to the burrowing nematode *Radopholus similis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 1, p. 105–110, 2014. DOI: 10.1073/pnas.1314168110

HUANG, J. S.; BARKER, K. R. Glyceollin I in soybean-cyst nematode interactions: spatial and temporal distribution in roots of resistance and susceptible soybeans. **Plant Physiology**, v. 96, p. 1302-1307, 1991.

INOMOTO, M. M. Resistance evaluation of 12 maize hybrids to *Pratylenchus brachyurus*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 5, p. 308-312, 2011. DOI: 10.1590/ S1982-56762011000500006

INOMOTO, M. M., ASMUS, G. L. Host status of Gramineous cover crops for *Pratylenchus brachyurus*. **Plant Disease**, v. 94, p. 1022- 1025, 2010.

INOMOTO, M. M.; MOTTA, L. C. C.; MACHADO, A. C. Z.; SAZAKI, C.S.S. Reação de dez coberturas vegetais a *Pratylenchus brachyurus*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 151-157, 2006a.

INOMOTO, M. M.; MOTTA, L. C. C.; BELUTI, D. B.; MACHADO, A. C. Z. Reação de seis adubos verdes a *Meloidogyne javanica* e *Pratylenchus brachyurus*. **Nematologia Brasileira**: Brasília, v. 30, n. 1, p. 39-44, 2006b.

INOMOTO, M. M.; SILVA, R. A.; PIMENTEL, J. P. Patogenicidade de *Pratylenchus brachyurus* e *P. coffeae* em quiabeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 551-554, 2004.

JAEHN, A.; MENDES, M. L.; SILVA, M. F. A. Nematóides fitoparasitos associados a cultura da soja (*Glycine max* L. Merr.) no Vale do Paranapanema, SP. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 79-81, 1998.

JONES, J. T.; HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G. J.; GAUR, H. S.; HELDER, J.; JONES, M. G. K.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPES, R.; PALOMARES-RIUS, J.; WESEMAEL, W. M. L.; PERRY, R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 14, n. 9, p. 946–961, 2013.

JONES, J. T.; REAVY, B.; SMANT, G.; PRIOR, A. E. Glutathione peroxidases of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. **Gene**, v. 324, p. 47–54, 2004.

JONES, M. G. K.; FOSU-NYARKO, J. Molecular biology of root lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) and their interaction with host plants. **Annals of Applied Biology**, v. 164, p. 163-181, 2014.

KAPLAN, D. T.; KEEN, N. T.; THOMASON, I. J. Association of glyceollin with the incompatible response of soybean roots to *Meloidogyne incognita*. **Physiology Plant Pathology**, v. 16, p. 309–318, 1980.

KAPLAN, D. T.; KEEN, N. T.; THOMASON, I. J. Studies on the mode of action of glyceollin in soybean incompatibility to the root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Physiology Plant Pathology**, v.16, p. 319–325, 1980b.

KEMPSTER, V. N.; DAVIES, K. A. ; SCOTT, E. S. Chemical and biological induction of resistance to the clover cyst nematode (*Heterodera trifolii*) in white clover (*Trifolium repens*). **Nematology**, v. 3, n. 1, p. 35-43, 2001.

KUMAR, A. R.; KUMAR, N.; POORNIMA, K.; SOORIANATHASUNDARAM, K. Screening of in-vitro derived mutants of banana against nematodes using bio-chemical parameters. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**, v. 2, p. 271–278, 2008.

LEITE, B.; PASCHOLATI, S. F. Reconhecimento e transdução de sinais moleculares em interações plantas- fungos patogênicos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 5, p. 235-280, 1997.

LERAYER, A.; PATERNIANI, E.; SILVEIRA, J. M.; MENOSSI, M.; ODA, L.; DI CIERO, L. **Avaliação de impactos do milho geneticamente modificado**. Conselho de Informações Sobre

Biociencia (CIB). 2006. Disponível em: <http://www.cib.org.br/ctnbio/avaliacao_de_impactos_milho_CTNBIO1.pdf>. Data de acesso: 23 de jun. 2017.

LEVY, R. M.; HOMECHN, M.; SANTIAGO, D. C. S.; CADIOLI, M. C.; BAIDA, F. C. Reação de genótipos de milho ao parasitismo de *Meloidogyne incognita* raça 1 e a *M. paranaenses*. **Acta Scientiarum. Agronomy**: Maringá, v. 31, n. 4, p. 575-578, 2009. DOI: 10.4025/actasciagron.v31i4.761.

LEWIS, N. G.; YAMAMOTO, E. Lignin: occurrence, biogenesis and biodegradation. **Annual Review of Physiology Plant and Molecular Biology**, v. 41, p. 455, 1990.

LINSELL, K. J.; RILEY, I. T.; DAVIES, K. A.; OLDACH, K. H. Characterization of resistance to *Pratylenchus thornei* (nematoda) in wheat (*Triticum aestivum*): Attraction, penetration, motility, and reproduction. **Phytopathology**, v. 104, p.174-187, 2014.

LOOF, P. A. A. The family Pratylenchidae Thorne. In: NICKLE, W. R. (Ed.), Marcel Dekker, 1949. **Manual of agricultural nematology**, New York, USA, 1991, p. 363-421.

LOPES, C. M. L. **Populações de nematoides fitoparasitas em áreas de cultivo de soja, algodão, café e de vegetação nativa do Cerrado na região Oeste da Bahia**. 2015. 70 p.: il Dissertação de mestrado em Fitopatologia - Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

LORDELLO, L. G. E.; ARRUDA, H. V. Nota prévia acerca da ocorrência de nematódeos do gênero *Pratylenchus* em raízes de algodoeiro. **O Solo**, v. 49, p. 33-34, 1957.

LORDELLO, L. G. E. **Nematoides das plantas cultivadas**. 8.ed. São Paulo, Nobel, 1984, p.121.

LORDELLO, R. R. A.; LORDELLO, A. I. L.; SAWAZAKI, E.; ALOISI-SOBRINHO, J. Reação de genótipos de milho a *Pratylenchus* spp. em campo. **Nematologia Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 163-173, 1985.

LORDELLO, R. R. A.; SAWAZAKI, E.; LORDELLO, A. I. L.; ALOISI-SOBRINHO, J. Controle de *Pratylenchus* spp. em milho com nematicidas sistêmicos e com torta de mamona. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 7, p. 241-250, 1983.

LORDELLO, A. I. L.; LORDELLO, R. R. A.; SAWAZAKI, E. Avaliação da Resistência de Cultivares de Milho a *Meloidogyne incognita* Raça 3. In: Anais do XXI Congresso Nacional de Milho e Sorgo Londrina, 1996, p. 294.

LUC, M. Cyst nematodes in equatorial and hot tropical regions. In: **Cyst (Nemata) 9. The family Heteroderidae**. Filipjev e Schuurmans Stekhoven, 1941. *Revue de Nématologie*, v. 11, p. 159-176, 1986.

LUIS, J. G. Phenylphenalenone-type phytoalexins and phytoanticipins from susceptible and resistant cultivars of *Musa* species: Its potential for engineering resistance to fungi and nematodes into banana, **Acta Horticulturae**, v. 490, p. 425, 1998.

LUIS, J. G.; FLETCHER, W. Q.; ECHEVERRI, F.; GRILLO, T. A. Phenalenone-type phytoalexins from *Musa acuminata* synthesis of 4-phenyl-phenalenones. **Tetrahedron**, v. 50, n. 37, p. 10963–10970, 1994.

MacGUIDWIN, A. E.; BENDER, B. E. Development of a damage function model for *Pratylenchus penetrans* on corn. **Plant Disease**, v. 100, n. 4, 2016.

MACHADO, A. C. Z.; MOTTA, L. C. C.; SIQUEIRA, K. M. S.; FERRAZ, L. C. C. B.; INOMOTO, M. M. Host status of green manures for two isolates of *Pratylenchus brachyurus* in Brazil. **Nematology**, v. 9, p. 799-805, 2007.

MAI, W. F.; MULLIN, P. G. **Plant parasitic nematodes: a pictorial key to genera**. Ithaca: Cornell University Press, 1996, p. 277.

MANZOTTE, U.; DIAS, W. P.; MENDES, M. L.; SILVA, J. F. V.; GOMES, J. Reação de híbridos de milho a *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 105-108, 2002.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 41, DE 1º DE JULHO DE 2008. **Aprova alterações na lista de pragas quarentenárias ausente e presentes no país**. Brasília: Sistema integrado de legislação, p. 1-19, 2008. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/sanidade-vegetal/arquivos-quarentena/lista-de-pragas-quarentenarias-ausentes-e-presentes.pdf>>. Data de acesso: 03 de jun. 2017.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. Academic Press: London, UK, 2012.

MÁSCIA, R. *Bacillus amyloliquefaciens* e *Trichoderma harzianum* no manejo de *Pratylenchus brachyurus* e *Helicotylenchus* sp. na cultura da soja. 2016, 31 p. Dissertação de mestrado – Instituto Federal Câmpus Urutaí, Urutaí, 2017.

MATEILLE, M. Réactions biochimiques provoquées par trois nematodes phytoparasites dans les racines de *Musa acuminata* (groupe AAA) variétés poyo et Gros Michel. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 17, p. 283-290, 1994.

MAZZAFERA, P.; GANÇAVES, W.; FERNANDES, J. A. R. Fenóis, peroxidase e polifenoloxidase na resitência do cafeeiro a *Meloidogyne incognita*. **Bragantia**, v. 48, n. 2, p. 131-142, 1989.

MCDONALD, A. H.; NICOL, J. M. Nematode parasites of cereals. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**, 2nd ed. Wallingford, UK, CABI Publishing, 2005, p. 131-191.

MELILLO, M. T.; LEONETTI, P.; VERONICO, P. Benzothiadiazole effect in the compatible tomato-*Meloidogyne incognita* interaction: changes in giant cell development and priming of two root anionic peroxidases. **Planta**, v. 240, p. 841–854, 2014. DOI: 10.1007/s00425-014-2138-7

MENDONÇA-FILHO, M. A. M.; PINHO, R. G. V.; FONSECA, R. G.; NASCIMENTO, M. S.; SANTOS, A. O. Reação de híbridos de milho ao nematoide *Pratylenchus brachyurus*, cultivados na safrinha do Estado do Mato Grosso, p. 854-859 in: XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29, 2012, Águas de Lindóia. *Anais...* Águas de Lindoia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2012.

MIAMOTO, A.; SILVA, M. T. R.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; PUERARI, H. H. Alternative products for *Pratylenchus brachyurus* and *Meloidogyne javanica* management in soya bean plants. **Journal of Phytopathology**, 2017, p. 1–6. DOI: 10.1111/jph.12602

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Imprensa universitária, Recife. Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005, 398 p.

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

MONTEIRO, A. R. Pratilencose do milho. *Revista Agrícola*, Piracicaba, v.38, p.177-187, 1963.

MOORE, J. M.; KLOSE, S.; TABATABAI, M. A. Soil microbial biomass carbon and nitrogen as affected by cropping systems. **Biology and Fertility of Soils**, Switzerland, v. 31, n. 3-4, p. 200-210, 2000.

MOTOYAMA, M. M.; SCHWAN-ESTRADA, 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**, v.25, p.491-496, 2003.

MUTAR, S. S.; FATTAH, F. A. Induced systemic resistance to *Meloidogyne* spp by β ,amino butyric acid in tomato. **Agricultural Sciences**, v. 4, n. 11, p. 608-613, 2013.

NANDI, B.; SUKUL, N. C.; BANERJEE, N.; SENGUPTA, S.; DAS, P.; BABU, S. P. S. Salicylic acid enhances resistance in cowpea against *Meloidogyne incognita*. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 41, p. 39-44, 2002.

NEVES, D. L.; RIBEIRO, L. M.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; CAMPOS, H. D.; RIBEIRO, G. C. Survival of *Pratylenchus brachyurus* in different substrates with low moisture content. **Nematropica**, v. 42, p. 211-217, 2012.

NEVES, S. S.; SOARES, P. L. M.; BATISTA, E. S. P.; SANTOS, J. M. dos. Corn hybrid performance under the action of *Pratylenchus brachyurus* and *P. zaei*. **Nematropica**, v. 46, p. 71-75, 2016.

NICHOLSON, R. L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 30, p. 369-389, 1992.

NORTON, D. C.; TOLLEFSON, J.; HINZ, P.; THOMAS, S. H. Corn yield increases relative to non-fumigant chemical control of nematodes. **Journal of Nematology**, v. 10, p. 160-165, 1978.

OKA, Y.; COHEN, Y. Induced resistance to cyst and root-knot nematodes in cereals by DL-amino-butiric acid. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, n. 2, p. 219-227, 2001.

OLIVEIRA, M. K. R. dos S.; CHAVES, A.; VIEIRA, D. A. do N.; SILVA, E. J. da; RODRIGUES, W. D. de L. Controle biológico de fitonematóides do gênero *Pratylenchus* através de inoculante natural em cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 6, n. 2, p. 203-207, 2011.

OWEN, K. J.; GREEN, C. D.; DEVERALL, B. J. A benzothiadiazole applied to foliage reduces development and egg deposition by *Meloidogyne* spp. in glasshouse-grown grapevine roots. **Australasian Plant Pathology**, v. 31, p. 47-53, 2002.

OWEN, K. J.; GREEN, C. D.; DEVERALL, B. J. Systemic acquired resistance against root-knot nematodes in grapevines. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 7., 1998, Edinburg, UK. **Proceedings 7th International Congress of Plant Pathology**. Edinburg: [s.n.], 1998.

PALIWAL, R. L.; GRANADOS, G.; LAFITTE, H. R.; VLOLLC, A. D. **Tropical Maize: Improvement and Production**. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. 2000, p. 105-114.

PASSARDI, F.; COSIO, C.; PENEL, C.; DUNAND, C. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. **Plant Cell Reports**, v. 24, p. 255-265, 2005.

PASSARDI, F.; PENEL, C.; DUNAND, C. Performing the paradoxal: how plant peroxidases modify the cell wall. **Trends in Plant Science**, v. 9, p. 534-540, 2004.

PIETERSE, C. M. J.; ZAMIOUDIS, C.; BERENDSEN, R. L.; WELLER, D. M.; VAN WEES, S. C. M.; BAKKER, P. A. H. M. Induced Systemic Resistance by beneficial microbes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 52, p. 347-375, 2014.

PINTO, N. F. J. A.; SANTOS, M. A.; WRUCK, D. S. M. Principais doenças da cultura do milho. **Informe Agropecuário**: Belo Horizonte, v. 27, n. 233, p. 82-94, 2006.

PUERARI, H. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; CARDOSO, M. R.; HERNANDES, I.; BRITO, O. D. C. Resistance inducers in the control of root lesion nematodes in resistant and susceptible cultivars of maize. **Phytoparasitica**, v. 43, p. 383-389, 2015. DOI: 10.1007/s12600-014-0447-9

PUERARI, H. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; DADAZIO, T. S.; MATTEI, D.; SILVA, T. R. B.; RIBEIRO, R. C. F. Evaluation of acibenzolar-S-methyl for the control of *Meloidogyne javanica* and effects on the development of susceptible and resistant soybean. **Tropical Plant Pathology**, v.38, p.44-48, 2013.

QUEIRÓZ, C. A.; FERNANDES, C. D.; VERZIGNASSI, J. R.; VALLE, C. B.; JANK, L.; MALLMANN, G.; BATISTA, M. V. Reaction of accessions and cultivars of *Brachiaria* spp. and *Panicum maximum* to *Pratylenchus brachyurus*. **Summa Phytopathologica**, v.40, n.3, p.226-230, 2014.

QUIMETTE, D. G.; COFFEY, M. D. Symplastic entry and phloem translocation of phosphonate. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 38, n. 1, p. 18-25, 1990.

RIBEIRO, L. M.; CAMPOS, H. D.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; NEVES, D. L.; RIBEIRO, G. C. Effect of soybean seed treatment on the population dynamics of *Pratylenchus brachyurus* under water stress condition. **Bioscience Journal: Uberlândia**, v. 30, n. 3, p. 616-622, 2014.

RIBEIRO, N. R.; DIAS, W. P. **Distribuição de fitonematoides em regiões produtoras de soja do estado de Mato Grosso**. Projeto de pesquisa Aprosmat/Facs, 2009, 6 p. Disponível em: <<http://aprosmat.com.br/wp-content/uploads/2012/11/DISTRIBUICAO-DEFITONEMATOIDES.pdf>>. Acesso em: 29 de agosto de 2017.

RIBEIRO, N. R.; DIAS, W. P.; HOMECHIN, J.; SILVA, J. F. V.; FRANCISCO, A. **Avaliação da reação de espécies vegetais ao nematóide das lesões radiculares**. In: XXIX Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil. *Anais...*Campo Grande, MS, 2007, p. 64-65.

RIBEIRO, N. R.; SILVA, J. F. V.; MEIRELLES, W. F.; CRAVEIRO, A. G.; PARENTONI, S. N.; SANTOS, F. G. Avaliação da resistência de genótipos de milho, sorgo e milheto a *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* raça 3. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.1, n.3, p.102-103, 2002.

RICH, J. R.; KEEN, N. T.; THOMASON, I. J. Association of coumestrols with the hypersensitivity of Lima bean roots to *Pratylenchus scribneri*. **Physiological Plant Pathology**, v. 10, n. 2, p. 105-116, 1977. DOI: 10.1016/0048-4059(77)90014-5

ROBB, J.; LEE, S. W.; MOHAN, R.; KOLATTUKUDY, P. E. Chemical characterization of stress induced vascular coating in tomato. **Plant Physiology**, v. 97, p. 528-536, 1991.

ROCHA, M. R.; CASTRO, R. M.; PINA, R. C.; MARTINI, A. L. Efeito do acibenzolar-S-methyl (benzothiadiazole), como indutor de resistência sistêmica em soja (*Glycine Max* cv. FT-Cristalina), sobre *Heterodera glycines*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 30, n. 2, p. 35-38, 2000.

- ROLDI, M.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; ABE, V. H. F.; MATTEI, D.; SEVERINO, J. J.; RODRIGUES, D. B.; FELIX, J. C. Agro industrial waste and sewage sludge can control *Pratylenchus brachyurus* in maize. **Acta Agriculturae Scandinavica Section B - Soil and Plant Science**, v. 63, n. 3, p. 283-287, 2013. DOI: 10.1080/09064710.2012.751449.
- ROMÁN, J.; HIRSCHMANN, H. Embryogenesis and postembryogenesis in species of *Pratylenchus* (Nematoda: Tylenchidae). **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, v. 36, p. 164-174, 1969.
- ROMEIRO, R. S.; GARCIA, F. A. O. Indução de resistência em plantas a patógenos por eliciadores de natureza bacteriana. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 85-99.
- RON, M.; AVNI, A. The receptor for the fungal elicitor ethylene-inducing xylanase is a member of a resistance-like gene family in tomato. **Plant Cell**, v. 16, p. 1604-1615, 2004.
- ROSA, J. M. O.; OLIVEIRA, S. A.; JORDÃO, A. L.; SIVIERO, A.; OLIVEIRA, C. M. G. Nematoides fitoparasitas associados à mandioca na Amazônia Brasileira. **Acta Amazonica**, v. 44, n. 2, p. 271-275, 2012.
- RYALS, J. A.; NEUENSCHWANDER, U. H.; WILLITS, M. G.; MOLINA, A. STEINER, H. Y.; HUNT, M. D. Systemic acquired resistance. **The Plant Cell**, Rockville, v. 8, n. 10, p. 1809-1819, 1996.
- SALGADO, S. M. L.; RESENDE, M. L. V.; CAMPOS, V. P. Efeito de indutores de resistência sobre *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.4, p.1007-1013, 2007.
- SALGADO, S. M. L.; SILVA, L. H. C. P. Potencial da indução de resistência no controle de fitonematoides. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Eds.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. cap.7, p. 155-165.
- SANKAR, C.; SOORIANATHASUNDARAM, K.; KUMAR, N.; KARUNAKARAN, G.; SIVAKUMAR, M. Induction of Resistant to *Radopholus similis* and Defence Related Mechanism in Susceptible and Resistance Banana Hybrids Infected with *Radopholus similis*. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6. n. 4, p. 1668-1684, 2017.
- SAWAZAKI, E.; LORDELLO, A. I. L.; LORDELLO, R. R. A. Herança da resistência de milho a *Pratylenchus* spp. **Bragantia**, Campinas, v. 46, n. 1, p.27-33, 1987.
- SCHAFFER, W. M.; BRONNIKOVA, T. V. Peroxidase- ROS interactions. **Nonlinear Dynamics**, v. 68, n. 3, p. 413-430, 2012.

SEAB (Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento). **Milho: análise da conjuntura**. 2015, 6 p.

SEENIVASAN, N. Efficacy of *Pseudomonas flourescens* and *Paecilomyces lilacinus* against *Meloidogyne graminicola* infesting rice under system of rice intensification. **Archives Phytopathology Plant Protection**, v. 44, p. 1467-1482, 2011.

SELIM, M. E.; MAHDY; M. E; SORIAL; M. E.; DABABAT, A. A.; SIKORA, R. A. Biological and chemical dependent systemic resistance and their significance for the control of root-knot nematodes. **Nematology**, p.1-11, 2014. DOI: 10.1163/15685411-00002818

SEVERINO, J. J.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; TESSMANN, D. J. Nematodes associated with sugarcane in sandy soils in Paraná, Brazil. **Nematropica**, n. 40, p. 111-119, 2010.

SILVA, G. S.; FERRAZ, S.; SANTOS, J. M. Histopatologia de raízes de Crotalária parasitadas por *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, p. 46-48, 1990.

SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, J. R.; DUTRA, M. R.; CAMPOS, V. P. Aumento da resistência de cultivares de tomate a *Meloidogyne incognita* com aplicações de Acibenzolar-S-metil. **Nematologia Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 199-206, 2004.

SILVA, G. F. **Levantamento de fitonematoides nas culturas de soja e milho no município e Jataí-GO**. 2007. 58 p.: il. Dissertação de mestrado em Fitopatologia – Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais. 2007.

SILVA, G. S. **Métodos alternativos de controle de fitonematoides**. In: Revisão Anual de Patologia de Plantas-RAPP, v. 19, p. 81-152, 2011.

SILVA, M. N.; CARDOSO, A. R.; FERREIRA, D.; BRITO, M.; PINTADO, M. E.; VASCONCELOS, M. W. Chitosan as a biocontrol agent against the pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). **Forest Pathology**, v. 44, p. 420-423; 2014. DOI: 10.1111/efp.12136

SOBCZAK, M.; AVROVA, A.; JUPOWICZ, J.; PHILLIPS, M. S.; ENST, K.; KUMAR, A. Characterization of susceptibility and resistance responses to potato cyst nematode (*Globodera* spp.) infection of tomato lines in the absence and presence of the broad-spectrum nematode resistance *hero* gene. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, vol. 18, n. 2, p. 158–168, 2005. DOI: 10.1094/MPMI -18-0158

SORIANO, I. R.; ASENSTORFER, R. E.; SCHMIDT, O.; RILEY, I. T. Inducible flavone in oats (*Avena sativa*) is a novel defense against plant-parasitic nematodes. **Nematology**, v. 94, p. 1207-1214, 2004.

SOUZA, P. M.; BRAGA, M. J. Aspectos econômicos da produção e comercialização do milho no Brasil. In: GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. (Ed.). **Tecnologia de produção de milho**. Viçosa: UFV, 2004. p. 13-53.

SUNDARARAJU, P.; SUBA, K. P. Biochemical and molecular changes in banana plants induced by *Pratylenchus coffeae* and *Meloidogyne incognita*. **Indian Journal of Nematology**, v. 36, n. 2, p. 239-242, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4ª ed. Artmed, 2008, 820 p.

TAVARES-SILVA, C. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; ROGERIO, F.; PUERARI, H. H.; MATTEI, D.; SILVA, T. R. B.; FERRARESE-FILHO, O. Control of *Meloidogyne javanica* and *Pratylenchus brachyurus* with crambe presscake. **Nematropica**, v. 45, p. 215-221, 2015.

TENENTE, R. C. V.; GONZAGA, V.; MELO, L. A. M. P.; TENENTE, M. S. M. **Bibliografia brasileira de nematóides**. EMBRAPA–CENARGEN, Brasília, 2002. 386 p. (Documentos, 76).

TIHOHOD, D. **Guia prático de identificação de fitonematoides**. FCAV, FAPESP, Jaboticabal, 1997, p. 246.

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

TRIPATHI, K. K.; GOVILA, O. P.; WARRIER, R.; AHUJA, V. **Biology of Zea mays (Maize)**. Series of crop specific biology documents. Department of Biotechnology, Ministry of Science & Technology & Ministry of Environment and Forests, Government of India. 2011, 39 p.

TRUDGILL, D. L. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 29, p. 167–192, 1991.

VAGANAN, M. M; RAVI, I.; NANDAKUMAR, A.; SARUMATHI, S.; SUDARARAJU, S.; MUSTAFFA, M. M. Phenylpropanoid enzymes, phenolic polymers and metabolites as chemical defenses to infection of *Pratylenchus coffeae* in roots of resistant and susceptible bananas (*Musa* spp.). **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 52, p. 252-260, 2014.

VALE, D. M. do; ALMEIDA, J. A. de; MARÇAL, L. M.; VIEIRA, B. do C.; ROSA, T. A.; PAIVA, L. C.; ARAÚJO, F. G. **Cama de frango no manejo de *Pratylenchus brachyurus* na cultura da soja**. In: IV Congresso Estadual de Iniciação Científica do Instituto Federal Goiano, 2015. Campus Morrinhos, *Anais...Even3*, L3 Soluções em Tecnologia, 2015.

VALETTE, C.; ANDARY, C.; GEIGER, J. P.; SARAH, J. L.; NICOLE, M. Histochemical and cytochemical investigations of phenols in roots of banana infected with burrowing nematode *Radopholus similis*, **Nematology**, v. 88, p. 1141-1148, 1998.

VALLAD, G. E.; GOODMAN, R. M. Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. **Crop Science**, v. 44, p. 1920-1934, 2004. DOI: 10.2135/cropsci2004.1920.

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

VAUGHN, K. C.; DUKE, S. O. Function of polyphenol oxidase in higher plants. **Physiologia Plantarum**, v. 60, p. 106-112, 1984.

VITERBO, A.; WIEST, A.; BROTMAN, Y.; CHET, I.; KENERLEY, C. The 18mer peptaibols from *Trichoderma virens* elicit plant defence responses. **Molecular Plant Pathology**, v. 8, p. 737-746, 2007. DOI: 10.1111/j.1364-3703.2007.00430.x

WALLACE, H. R. **Nematode ecology and plant disease**. London, UK, Edward Arnold, 1973, p. 228.

WALTER, M. W.; GRIMA-PETTENATI, J.; GRAND, C.; BOUDET, A. M.; LAMB, C. Cinnamyl-alcohol dehydrogenase, a molecular marker specific for lignin synthesis: cDNA cloning and mRNA induction by fungal elicitor. **Proceeding of the National Academy of Sciences, USA**, v. 85, p. 5546, 1988.

WALTERS, M. C. Maize pest of sub-Saharan Africa. In: HÄFLINGER, E. H. (Eds) **Maize**. Ciba-Geigy Agrochemicals Technical Monograph. Ciba Geigy, Basel, Switzerland, 1979, p. 66-77.

WHETTEN, R.; SEDEROFF, R. Lignin biosynthesis. **Plant Cell**, v. 7, p. 1001, 1995.

WILCKEN, S. R. S.; FUKAZAWA, R. M.; ROSA, J. M. O. R.; JESUS, A. M.; BICUDO, S. J. Reprodução de *Meloidogyne incognita* raça 2 e *M. javanica* em genótipos de milho em condições de casa-de-vegetação. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 35-38, 2006.

WILLIAMSON, V. M. Root-knot nematode resistance genes in tomato and their potential for future use. **Annual Review of Phytopathology**, v. 36, p. 277-93, 1998.

WILLIAMSON, V. M.; HUSSEY, R. Nematode Pathogenesis and Resistance in Plants. **The Plant Cell**, v. 8, p. 1735-1745, 1996.

WUYTS, N.; De WAELE, D.; SWENNEN, R. Activity of phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase and polyphenol oxidase in roots of banana (*Musa acuminata* AAA, cvs Grande Naine and Yangambi km5) before and after infection with *Radopholus similis*. **Nematology**, v. 8, n. 2, p. 201-209, 2006.

WUYTS, N.; LOGNAY, G.; VERSCHEURE, M.; MARLIER, M.; WAELE, D. D.; SWENNEN, R. Potential physical and chemical barriers to infection by the burrowing nematode *Radopholus*

similis in roots of susceptible and resistant banana (*Musa* spp.), **Plant Pathology**, v. 56, p. 878, 2007.

ZACHEO, G., ZACHEO, T. B., PACODA, D., ORLANDO, C.; DURBIN, R. D. The association between heat induced susceptibility of tomato to *Meloidogyne incognita* and peroxidase activity. **Physiology Molecular Plant Pathology**, 46: 491-507, 1995.

Capítulo 1

**Indutores de resistência no controle de nematoides das lesões radiculares
em milho resistente e suscetível**

Artigo publicado em 2015 pela revista *Phytoparasitica*

PUERARI, H. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; CARDOSO, M. R.; HERNANDES, I.; BRITO, O. D. C. Resistance inducers in the control of root lesion nematodes in resistant and susceptible cultivars of maize. ***Phytoparasitica***, v. 43, p. 383-389, 2015. DOI: 10.1007/s12600-014-0447-9

Indutores de resistência no controle de nematoides das lesões radiculares em milho resistente e suscetível

RESUMO

Pratylenchus brachyurus destaca-se entre os nematoides de grande importância para a agricultura nacional, principalmente pela dificuldade de controlá-lo. Assim, o trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de indutores de resistência no manejo do parasito em milho resistente e suscetível. Foram estudados os indutores Bion 500 WG[®] (acibenzolar-S-metil), Ecolife[®] (biomassa cítrica) e Phytogard Manganês (fosfito de manganês). O experimento foi conduzido em esquema fatorial 2 x 4, consistindo em duas cultivares de milho (resistente e suscetível) e aplicação de cada indutor aos sete e um dia antes da inoculação, sete dias após a inoculação e plantas sem inoculação de cada indutor. Acibenzolar-S-metil foi eficiente em reduzir a população do nematoide em ambas cultivares. Ecolife[®] promoveu redução do número de nematoide g de raiz⁻¹ em cultivar suscetível; enquanto os resultados para o fosfito foram variáveis. Em geral, os indutores não apresentaram efeito expressivo sobre o desenvolvimento da planta, sendo o mesmo afetado principalmente pelo fator genótipo.

Palavras-chave: Acibenzolar-s-metil. Ecolife[®]. Fosfito de manganês. *Pratylenchus brachyurus*. *Zea mays*.

Indutores de resistência no controle de nematoides das lesões radiculares em milho resistente e suscetível

ABSTRACT

Pratylenchus brachyurus stands out among the major importance nematodes for the national agriculture, due your difficulty of control. Thus, the study aimed to evaluate the efficiency of resistance inductors in the nematode management in resistant and susceptible maize. It was studied the inductors Bion 500 WG[®] (acibenzolar-S-metil), Ecolife[®] (citric biomass) e Phytogard Manganês (manganese phosphite). The experiment was conducted in a factorial arrangement (2 × 4) composed for two maize genotypes (resistant and susceptible to nematode). Each inductor was applied, singly, seven days and one day before inoculation and seven days after inoculation to nematode. Untreated plants were used as control. The inductor Acibenzolar-S-metil was efficient to reduce the nematode population in both genotypes. Ecolife[™] promoted the reduction of nematode number g root⁻¹ in susceptible genotype while the results were variable for manganese phosphite. In general, the inductors showed no significant effect on plant development and the same factor mainly affected by genotype.

Keywords: Acibenzolar-s-metil. Ecolife[™]. Manganese phosphite. *Pratylenchus brachyurus*, *Zea mays* L.

INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos mais importantes produtos do setor agrícola brasileiro, com constante aumento na área de plantio e produtividade. Além disto, no país, o milho destaca-se como a principal cultura para rotação ou sucessão com soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Porém, o sistema de cultivo soja-milho tem causado constante aumento nas populações dos nematoides das lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev e Schuurmans Steekhoven). Esta espécie é citada como de grande importância para as principais culturas de interesse econômico no país, como soja, milho e cana-de-açúcar (JAEHN; MENDES; SILVA, 1998; SEVERINO; DIAS-ARIEIRA; TESSMANN, 2010; INOMOTO, 2011). Outro problema agravante é que a maioria dos híbridos de milho disponíveis no mercado são suscetíveis ao nematoide (INOMOTO, 2011).

O controle de *P. brachyurus* é complexo e requer o emprego de práticas integradas. Uma das ferramentas que pode ser usada no sistema de manejo é a aplicação de indutores de resistência. O estudo da indução de resistência para o controle de nematoides tem sido relatado com maior frequência nos últimos anos, sendo possível encontrar trabalhos utilizando diversos elicitores, contra diferentes nematoides, em várias culturas (FABRY et al., 2007; FRANZENER et al., 2007; MOLINARI; BASER, 2010; PUERARI et al., 2013a). Contudo, geralmente os trabalhos concentram-se na pesquisa com *Meloidogyne* spp.

Dentre as pesquisas com indutores de resistência para o manejo de *Pratylenchus* spp., Dias-Arieira et al. (2012) constataram que o fosfito de potássio foi eficiente em reduzir a população do *P. brachyurus* em milho, o que possivelmente ocorreu devido à capacidade do fosfito estimular mecanismos de autodefesa em plantas, como a produção de fitoalexinas (DERCKX; CREASY, 1989). O fosfito de manganês também foi estudado, objetivando o controle de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, ao qual reduziu o número de ovos g⁻¹ de raiz, quando aplicado sete dias antes da inoculação do nematoide em cultivar de soja resistente (PUERARI et al., 2013b).

O acibenzolar-S-metil (ASM) foi eficiente no manejo de populações mistas, composta por *Meloidogyne* e *Pratylenchus* em cana de açúcar (CHAVES et al., 2004), mas, em outro trabalho, não foi eficiente em controlar *Pratylenchus zaei* Graham na mesma cultura (CHAVES et al., 2012). Outro indutor de resistência, silicato de potássio, também não apresentou resultados positivos no controle de *P. zaei*, 100 dias após o transplante de cana (GUIMARÃES et al., 2008).

O Ecolife[®], que de acordo com informações do fabricante, é um composto de biomassa cítrica, que contem polifenóis, flavonoides, fitoalexinas e ácidos orgânicos diluídos, também foi citado por possuir substâncias que provocam alterações no metabolismo das plantas, auxiliando na prevenção de doenças (MOTOYAMA et al., 2003) e tem mostrado potencial de controle frente a diferentes populações de nematoides (*Meloidogyne incognita* (Kofoid e White), Chitwood + *P. brachyurus*) em cana-de-açúcar (GUIMARÃES, 2007).

Diante da escassez de pesquisas visando o uso de indutores no manejo de *Pratylenchus* spp., o trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do ASM, fosfito de manganês e Ecolife[®] no manejo de *P. brachyurus* em milho resistente e suscetível.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação, da Universidade Estadual de Maringá, Campus Regional de Umuarama, Umuarama, Paraná, Brasil. Cada indutor foi estudado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4, sendo avaliados duas cultivares de milho, híbrido Gênese 2005 (MENDONÇA FILHO et al., 2012) e AL Bandeirantes, considerados resistentes e suscetíveis ao nematoide, respectivamente, e três épocas de aplicações de cada indutor (aplicação sete e um dia antes da inoculação, sete dias após a inoculação) e a testemunha, sem aplicação. Os experimentos foram conduzidos em dois períodos diferentes: experimento 1 de 14/08/2012 a 14/10/12, constando de cinco repetições, e experimento 2 de 06/10/12 a 06/12/13, constando de quatro repetições.

As sementes de milho foram semeadas em bandejas de poliestireno, contendo substrato Plantmax[®] (composto de casca de pinheiro, fibra de coco e vermiculita). Aos 12 dias após a semeadura, realizou-se o transplante das mesmas para vasos contendo 1,5 L da mistura solo: areia (2:1, v:v), previamente autoclavado (120°C 2 horas⁻¹).

As plantas foram tratadas, separadamente, com acibenzolar-S-metil (Bion 500[®], Syngenta), fosfito de manganês (Phytogard Manganês[®], Sttoller) e Ecolife[®] (Quinabra), nas dosagens recomendadas pelo fabricante, ou seja, 0,5 g L⁻¹, 20 mL L⁻¹ e 1,5 mL L⁻¹ de água, respectivamente. As aplicações foram feitas por aspersão na parte aérea, até o ponto de escorrimento superficial, protegendo o solo para que não recebesse o produto.

O inóculo utilizado foi obtido de população pura de *P. brachyurus* mantida em raízes de milho. Para obtenção dos nematoides, as raízes foram submetidas à extração seguindo a metodologia proposta por Coolen; D'Herde (1972), sendo a suspensão calibrada para 250 espécimes mL⁻¹, utilizando câmara de Peters e microscópio óptico. Cada planta foi inoculada com 1000 nematoides, aplicando-se a suspensão em quatro orifícios abertos no solo, ao redor do colo da planta.

As plantas permaneceram em casa de vegetação por 60 dias, sendo irrigadas diariamente. Decorrido este período, as mesmas foram coletadas e a parte aérea foi separada do sistema radicular. Na parte aérea determinou-se altura, utilizando régua milimetrada, massa fresca e seca, utilizando balança semi-analítica. Para obtenção da massa seca, a parte aérea foi depositada em sacos de papel e mantida em estufa de secagem por circulação forçada, a 65 °C até a obtenção do peso constante.

O sistema radicular foi cuidadosamente lavado e colocado sobre papel absorvente para eliminação do excesso de água. Em seguida, determinou-se a massa fresca da raiz e, posteriormente, avaliou-se o número de nematoides por sistema radicular, extraídos pela metodologia já descrita. As amostras foram avaliadas em câmara de Peters, sob microscópio óptico. O número de nematoides por sistema radicular foi dividido pela massa da raiz, obtendo-se o número de nematoides g⁻¹ raiz.

Os dados obtidos para cada indutor foram submetidos à análise de variância e, quando houve interação entre os fatores, realizou-se o desdobramento estudando o fator época de aplicação dentro de cada genótipo. As médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Os dados foram transformados em $\sqrt{x + 1}$ para as análises.

RESULTADOS

Para o produto ASM, observou-se que para altura de planta, a interação cultivar x aplicação de indutor foi significativa no experimento 1, no qual plantas não tratadas apresentaram crescimento superior às tratadas com o indutor, especialmente sete dias antes da inoculação, independente da cultivar (Tabela 1.1). Contudo, os fatores e suas interações não apresentaram significância no experimento 2.

Para a massa fresca da parte aérea, a única significância observada foi para o fator cultivar no experimento 1, sendo que o resistente (GNZ 2005) apresentou média (40,5 g) significativamente superior (32,5 g) ao suscetível (AL Bandeirantes). Enquanto a massa seca apresentou interação significativa no experimento 1, com valor superior à testemunha no tratamento um dia antes da inoculação na cultivar resistente (Tabela 1.1). No experimento 2 (Tabela 1.1), mais uma vez, apenas o fator cultivar foi significativo para massa seca de parte aérea, sendo o resistente (6,9 g) superior ao suscetível (5,8 g). A massa fresca de raiz só apresentou diferença significativa para o fator cultivar no experimento 1, com média superior para a cultivar resistente (19,6 g), quando comparada à suscetível (13,7 g).

Tabela 1.1 Análise do desdobramento da época de aplicação dentro de cada cultivar para os parâmetros altura de planta e massa fresca e seca da parte aérea de milho, tratado com acibenzolar-S-metil, em experimentos realizados em dois períodos diferentes

Época de aplicação	Altura (cm)			MFPA (g)		MSPA (g)		
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 2	
	Resist.	Susct.	-	-	-	Resist.	Susct.	-
Test.	100,0a	110,8a	73,0 ^{ns}	39,1 ^{ns}	17,7 ^{ns}	12,2b	14,2ab	6,4 ^{ns}
7 DAtI	79,6b	81,8b	73,1	29,0	20,1	14,1b	11,4b	6,7
1 DAtI	98,4a	85,6b	79,5	37,1	16,5	20,8a	11,6b	6,0
7 DApI	79,3b	101,0ab	72,4	40,8	15,9	17,7ab	17,8a	6,2
CV(%)	8,52		6,42	8,94	9,82	18,44		16,26

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns= não significativo. Test.=testemunha. DAtI=dias antes inoculação. DApI=dias após inoculação. MFPA=massa fresca de parte aérea. MSPA=massa seca de parte aérea.

Quanto ao número de nematoides por grama de raiz, tanto os fatores, quanto suas interações foram significativas. A análise do desdobramento mostrou que para a cultivar suscetível, em ambos os experimentos, a reprodução do nematoide foi inferior quando o milho foi tratado com o ASM (Tabela 1.2). O mesmo foi observado para a cultivar resistente, porém apenas no experimento 1.

Para o produto comercial Ecolife™ observou-se redução na altura de planta apenas no experimento 1, principalmente quando aplicado sete e um dia antes da inoculação, independente do genótipo (Tabela 1.3). No entanto, os fatores e a interação não mostrou significância no experimento 2. A massa fresca da parte aérea foi influenciada pela época de aplicação e pela

interação no experimento 1, cujo desdobramento mostrou que a cultivar suscetível não tratado apresentou média superior ao tratamento com indutor (Tabela 1.3).

Tabela 1.2 Análise do desdobramento da época de aplicação dentro de cada cultivar para os parâmetros massa fresca de raiz e nematoide g de raiz⁻¹ de milho, tratado com acibenzolar-S-metil, em experimentos realizados em dois períodos diferentes

Época de aplicação	MFR (g)		Nematoide g raiz ⁻¹			
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1		Exp. 2	
	-	-	Resist.	Susctet.	Resist.	Susctet.
Test.	17,0 ^{ns}	15,1 ^{ns}	74,7a	226,2a	147,9 ^{ns}	318,3 ^a
7 DAtI	14,2	16,7	49,5b	65,7c	152,3	128,3b
1 DAtI	16,2	15,5	53,9b	59,6c	149,3	115,8b
7 DApI	19,3	15,2	52,2b	139,6b	155,1	42,9b
CV(%)	21,05	15,30	19,72		22,29	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns= não significativo. Test.=testemunha. DAtI=dias antes inoculação. DApI=dias após inoculação. MFR=massa fresca de raiz.

No experimento 2, a massa fresca da parte aérea foi influenciada apenas pela cultivar, com valor superior para o resistente (19,9 g contra 15,0 g). Resultado semelhante foi observado para a massa seca, quando o material resistente apresentou média significativamente superior ao suscetível (14,5 g e 11,9 g no experimento 1 e 7,0 e 5,6 g no experimento 2, para as cultivares resistente e suscetível, respectivamente) e, também, para a massa fresca da raiz, cujas médias foram 17,6 g e 13,8 g (experimento 1) e 17,9 e 14,8 g (experimento 2), para o milho resistente e suscetível, respectivamente (Tabela 1.3).

Tabela 1.3 Análise do desdobramento da época de aplicação dentro de cada cultivar para os parâmetros altura de planta, massa fresca e seca da parte aérea de milho, tratado com EcolifeTM, em experimentos realizados em dois períodos diferentes

Época de aplicação	Altura (cm)			MFPA (g)		MSPA (g)		
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	
	Resist.	Susctet.	-	Resist.	Susctet.	-	-	
Test.	100,0a	101,0a	74,3 ^{ns}	37,1 ^{ns}	41,2a	17,7 ^{ns}	13,2 ^{ns}	6,5 ^{ns}
7 DAtI	58,0c	72,6b	74,0	33,0	27,5b	15,9	12,8	5,6
1 DAtI	76,2bc	75,0b	76,0	41,0	19,6c	19,8	13,0	6,9
7 DApI	81,4ab	88,0ab	76,5	40,8	24,3b	16,7	13,8	6,4
CV(%)	9,36		8,12	18,91		15,34	16,11	14,05

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns= não significativo. Test.=testemunha. DAtI=dias antes inoculação. DApI=dias após inoculação. MFPA=massa fresca de parte aérea. MSPA=massa seca de parte aérea.

A interação entre os fatores foi significativa para o número de nematoides/g de raiz, observando-se que o tratamento da cultivar resistente aumentou a população do nematoide, especialmente quando aplicado um dia antes da inoculação (Tabela 1.4). Por outro lado, em ambos os experimentos, o tratamento de milho suscetível com Ecolife™ reduziu o número de nematoide, independente da época de aplicação.

Tabela 1.4 Análise do desdobramento da época de aplicação dentro de cada cultivar para os parâmetros massa fresca de raiz e nematoide g de raiz⁻¹ de milho, tratado com Ecolife™, em experimentos realizados em dois períodos diferentes

Época de aplicação	MFR (g)		Nematoide g raiz ⁻¹			
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2		
	Resist.	Susct.	Resist.	Susct.	Resist.	Susct.
Test.	17,0 ^{ns}	15,1 ^{ns}	74,7b	226,2a	147,9ab	318,3 ^a
7 DAtI	14,7	15,2	106,1ab	154,0b	138,9ab	259,3b
1 DAtI	14,7	17,1	198,3a	167,6b	200,4a	221,2bc
7 DApI	16,3	17,9	105,5ab	168,2b	77,2b	192,9c
CV(%)	21,12	18,52	14,14	24,74		

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns= não significativo. Test.=testemunha. DAtI=dias antes inoculação. DApI=dias após inoculação. MFR=massa fresca de raiz.

O uso do fosfito de manganês não promoveu alteração na altura de plantas (Tabela 1.5). Massa fresca de parte aérea foi maior na cultivar resistente em ambos períodos, com valores de 37,0 e 20,3 g (experimento 1) e 19,5 e 14,4 g (experimento 2), para a cultivar resistente e suscetível, respectivamente. Da mesma forma, para massa fresca de raiz (Tabela 5), a cultivar resistente apresentou valores superiores ao suscetível (17,0 x 13,9 g, para o experimento 1, e 17,1 x 12,7 g para o experimento 2).

Para a massa seca tanto a cultivar, quanto a interação dos fatores não foram significativas no experimento 1 (Tabela 1.5). No experimento 2, apenas o fator cultivar foi significativo, com valores superiores para a cultivar de milho resistente (6,7 g x 5,2 g, para resistente e suscetível, respectivamente).

Tabela 1.5 Análise do desdobramento da época de aplicação dentro de cada cultivar para os parâmetros altura de planta, massa fresca e seca da parte aérea de milho, tratado com fosfito de manganês, em experimentos realizados em dois períodos diferentes

Época de aplicação	Altura (cm)		MFPA (g)		MSPA (g)	
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2
Test.	100,5 ^{ns}	71,6 ^{ns}	39,1 ^{ns}	17,7 ^{ns}	13,2 ^{ns}	6,4 ^{ns}
7 DAtI	87,0	71,6	35,9	15,0	15,1	5,2
1 DAtI	91,4	76,1	27,0	18,7	12,2	6,1
7 DApI	87,8	74,9	32,5	16,4	14,2	6,1
CV(%)	9,39	9,05	14,88	16,06	14,03	13,33

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns= não significativo. Test.=testemunha. DAtI=dias antes inoculação. DApI=dias após inoculação. MFPA=massa fresca de parte aérea. MSPA=massa seca de parte aérea.

Observou-se interação significativa entre os fatores para o parâmetro nematoide g de raiz⁻¹, em ambos os experimentos. No experimento 1, houve redução na população do nematoide em milho suscetível tratado sete e um dia antes da inoculação (Tabela 1.6). Enquanto no experimento 2, menor reprodução do nematoide foi constatada em cultivar resistente, quando tratado sete dias antes da inoculação, se comparado aos demais tratamentos e testemunha não tratada.

Tabela 1.6 Análise do desdobramento da época de aplicação dentro de cada cultivar para os parâmetros massa fresca de raiz e nematoide g de raiz⁻¹ de milho, tratado com fosfito de manganês, em experimentos realizados em dois períodos diferentes

Época de aplicação	MFR (g)		Nematoide g raiz ⁻¹			
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2
	-	-	Resist.	Susct.	Resist.	Susct.
Test.	17,0 ^{ns}	15,1 ^{ns}	104,7 ^{ns}	226,2a	189,5a	318,3 ^{ns}
7 DAtI	14,0	14,6	123,8	104,1c	126,5b	391,5
1 DAtI	12,7	15,1	148,8	146,2bc	155,7ab	398,1
7 DApI	18,0	14,9	106,5	187,6ab	134,5b	201,2
CV(%)	19,78	21,02	23,37		10,41	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns= não significativo. Test.=testemunha. DAtI=dias antes inoculação. DApI=dias após inoculação. MFR=massa fresca de raiz.

DISCUSSÃO

A ausência de efeito do ASM no desenvolvimento de plantas foi anteriormente observada em outros patossistemas, como *M. javanica* e *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira em

feijão caupi ou soja (CHINNASRI; SIPES; SCHMITT, 2003), *M. exigua* Goeldi em café (SALGADO; RESENDE; CAMPOS, 2007), *M. incognita* (Kofoid; White) Chitwood em tomate (MOLINARI; BASER, 2010) e *M. incognita* em soja (PUERARI et al., 2013a). Possivelmente, tal fato ocorra devido ao consumo energético que a planta possui durante o processo de ativação dos mecanismos de resistência (DIETRICH et al., 2005). No caso dos patossistemas envolvendo nematoides sedentários, a principal explicação para isto é que o ASM não altera a taxa de penetração ou a indução de sítios de alimentação, mas sim a reprodução do nematoide (CHINNASRI; SIPES; SCHMITT, 2003; MOLINARI; BASER, 2010), assim o ASM permite que o nematoide cause danos no sistema radicular, comprometendo ou interferindo no desenvolvimento da parte aérea. Porém, para nematoides endoparasitos migradores, o modo de ação do indutor ainda não foi elucidado. Dois fatores podem ter contribuído para o maior desenvolvimento vegetativo da cultivar resistente: a) menor nível de estresse causado pela infecção do nematoide; b) as próprias características genótípicas do milho.

A eficiência do ASM para o manejo de fitonematoides já foi comprovada em diferentes estudos. Quando aplicado via pulverização foliar em videiras, sete dias antes da inoculação com *M. javanica* e *M. arenaria* (Neal) Chitwood, o ASM promoveu reduções de 40 a 80% no número de galhas e ovos em relação a plantas não tratadas (OWEN; GREEN; DEVERALL, 1998). Resultados semelhantes foram obtidos pela aplicação prévia no patossistema *M. incognita*-tomateiro (SILVA et al., 2002; SILVA et al., 2004). O ASM também foi eficiente no manejo de populações mistas, composta por *Meloidogyne* e *Pratylenchus* em cana de açúcar (CHAVES et al., 2004). Contudo, em outro trabalho, não foi eficiente em controlar *Pratylenchus zae* Graham na mesma cultura (CHAVES et al., 2012). Respostas de defesas nas plantas foram verificadas em raízes de tomateiro tratado com ASM, cinco dias após aplicação do indutor, sendo observado um aumento na atividade da enzima β -1,3-glucanase (OWEN; GREEN; DEVERALL, 1998).

O EcolifeTM ocasionou uma redução no crescimento do milho apenas em experimento 1. Resultados semelhantes foram obtidos em estudo conduzido com cultivares de soja suscetível e resistente, inoculadas com *M. javanica*, e tratadas com Ecolife[®], na qual, ambas cultivares apresentaram desenvolvimento vegetativo reduzido (PUERARI et al., 2013b). Conforme citado anteriormente, este produto é composto de biomassa cítrica e, ainda em soja, houve relatos de que

a aplicação de biomassa cítrica para controle de doenças da parte aérea não promoveu aumento em parâmetros vegetativos e reprodutivos da planta (KUHN et al., 2009; MESQUINI et al., 2011).

Em ambos experimentos, Ecolife™ foi eficiente em reduzir a população de *Pratylenchus brachyurus*, apresentando reduções que variaram de 25,6 a 31,9% e 18,5 a 39,4%, no experimento 1 e 2, respectivamente em cultivar suscetível. É possível, que a maior suscetibilidade da planta facilite a observação do efeito do produto, uma vez que no trabalho realizado por Puerari et al. (2013b), os resultados da indução por Ecolife™ também foram mais facilmente observados na associação soja suscetível-*M. javanica* do que em soja resistente-*M. javanica*.

A eficiência do Ecolife™ em controlar *P. brachyurus* foi anteriormente comprovada em estudos com populações mistas (*M. incognita* + *P. brachyurus*) em cana-de-açúcar, obtendo-se redução no número de nematoides tanto na raiz quanto na rizosfera (GUIMARÃES, 2007). É possível que o efeito indutor do Ecolife® esteja na biomassa cítrica que o compõe, uma vez que, trabalhos anteriores mostraram que diferentes concentrações de extratos cítricos promoveram a produção de fitoalexina gliceolina em cotilédones de soja (MOTOYAMA et al., 2003). KAPLAN; KEEN; THOMASON (1980) observaram que a produção e o acúmulo da fitoalexina gliceolina em cultivares de soja conferiram resistência a *M. incognita* e *M. javanica*.

Fosfito de manganês não apresentou efeito sobre o desenvolvimento vegetativos das plantas. Resultados semelhantes foram obtidos no patossistema soja-*M. javanica*, independente da suscetibilidade da cultivar (PUERARI et al., 2013b). De fato, alguns autores contestam o uso de fosfito como fonte nutricional de fósforo, destacando que não há evidências concretas de que as plantas o utilizem como fonte direta de fósforo (ÁVILA et al., 2012; HIROSSE et al., 2012), inclusive o milho (SCHRÖETTER et al., 2006).

Em outro estudo envolvendo o fosfito de manganês, apenas o tratamento com aplicação sete dias antes da inoculação proporcionou redução do número de *M. javanica* em cultivar resistente de soja, não sendo eficiente no controle do nematoide na cultivar suscetível (PUERARI et al., 2013b). No trabalho, os autores chamam atenção para a necessidade de pesquisas complementares de investigação de dosagens e épocas de aplicação, assim como, outras fontes de fosfito, uma vez que em estudo envolvendo o mesmo patossistema, o fosfito de potássio foi eficiente em reduzir a população de *P. brachyurus* (DIAS-ARIEIRA et al., 2012). Semelhante, OKA; TKACHI; MOR (2007) observaram que o fosfito de potássio aplicado na parte aérea

controlou *H. avenae* Wolleneber e *M. marylandi* Jepson e Golden nas culturas de trigo e aveia. Tal resultado pode ser conferido à capacidade do fosfito estimular a produção de fitoalexinas (DERCKES; CREASY, 1989).

CONCLUSÃO

Acibenzolar-S-metil e Ecolife™ foram eficientes no controle de *P. brachyurus*, principalmente em cultivar de milho suscetível ao nematoide, sob condições controladas. Enquanto o fosfito de manganês apresentou valores variáveis sob a população do nematoide. Em geral, os indutores não apresentaram efeito expressivo sobre o desenvolvimento vegetativo da planta, sendo este, afetado basicamente pelo fator cultivar.

AGRADECIMENTO

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de mestrado do primeiro autor e pela bolsa produtividade do segundo autor.

REFERÊNCIAS

- ÁVILA, A. W.; FAQUIN, V.; SILVA, D. R. G.; BASTOS, C. E. A.; OLIVEIRA, N. P.; SOARES, D. A. Phosphite as phosphorus source to grain yield of common bean plants grown in soils under low or adequate phosphate availability. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 36, p. 639-648, 2012.
- CHAVES, A.; PEDROSA, E. M. R.; COELHO, R. S. B.; GUIMARÃES, L. M. P.; MARANHÃO, S. R. V. L.; DA GAMA, M. A. S. Alternativas para o manejo integrado de fitonematoides em cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 7, p. 73-80, 2012.
- CHAVES, A.; PEDROSA, E. M. R.; GUIMARÃES, L. M. P.; MARANHÃO, S. R. V.; SILVA, I. L. S. S.; MOURA, R. M. Indução de resistência a nematóides em cana-de-açúcar cultivada em solo de áreas que apresentam declínio de desenvolvimento em tabuleiros nordestinos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29S, p. 142, 2004.
- CHINNASRI, B.; SIPES, B. S.; SCHMITT, D. P. Effects of acibenzolar-S-methyl application to *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 35, p. 110-114, 2003.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. State Agricultural Research Centre. Bélgica: Ghent. 1972. 77 p.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira: grãos, quinto levantamento, fevereiro de 2013. CONAB, 2013. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_02_08_17_24_51_boletim_fevereiro_2013.pdf>. Acesso em: 04 mai. 2013.

DERCKX, W.; CREASY, L. L. Influence of fosetyl-Al on phytoalexin accumulation in the *Plasmopara viticola* grapevine interaction. **Physiology and Molecular Plant Pathology**, v. 34, p. 203-213, 1989.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; MARINI, P. M.; FONTANA, L. F.; ROLDI, M.; SILVA, T. R. B. Effect of *Azospirillum brasilense*, Stimulate[®] and potassium phosphite to control *Pratylenchus brachyurus* in soybean and maize. **Nematopica**, v. 42, p. 170-175, 2012.

FABRY, C. F. S.; FREITAS, L. G.; GODINHO, M. M.; NEVES, W. S.; FERRAZ, S. Resistência sistêmica a *Meloidogyne javanica* induzida por *Rhizobium etli* G12. **Nematologia Brasileira**, v. 31, p. 5-9, 2007.

FRANZENER, G.; MARTINEZ-FRANZENER, A. S.; STANGARLIN, J. R.; FURLANETTO, C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Proteção de tomateiro a *Meloidogyne incognita* pelo extrato aquoso de *Tagetes patula*. **Nematologia Brasileira**, v. 31, p. 27-36, 2007.

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

GUIMARÃES, L. M. P.; PEDROSA, E. M. R.; COELHO, R. S. B.; CHAVES, A.; MARANHÃO, S. R. V. L.; MIRANDA, T. L. Efeito de metil jasmonato e silicato de potássio no parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zae* em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 32, p. 50-55, 2008.

HIROSSE, E. H.; CRESTE, J. E.; CUSTÓDIO, C. C.; MACHADO-FILHO, N. B. In vitro growth of sweet potato fed with potassium phosphite. **Acta Scientiarum-Agronomy**, v. 34, p. 85-91, 2012.

INOMOTO, M. M. Avaliação da resistência de 12 híbridos de milho a *Pratylenchus brachyurus*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, p. 308-312, 2011.

JAEHN, A.; MENDES, M. L.; SILVA, M. F. A. Nematóides fitoparasitos associados a cultura da soja, *Glycine max* (L.) Merr., no Vale do Paranapanema, SP. **Nematologia Brasileira**, v. 22, p. 79-81, 1998.

KAPLAN, D. T.; KEEN, N. T.; THOMASON, I. J. Studies on the mode of action of glyceollin in soybean incompatibility to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Physiology Plant Pathology**, v. 16, p. 319-325, 1980.

KUHN, R. A.; PORTZ, R. L.; STANGARLIN, J. R. Uso da biomassa cítrica no controle de doenças da soja. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 8, p. 85-98, 2009.

MENDONÇA FILHO, M. A. M.; PINHO, R. G. V.; FONSECA, R. G.; NASCIMENTO, M. S.; SANTOS, A. O. Reação de híbridos de milho ao nematóide *Pratylenchus brachyurus*, cultivados na safrinha no estado do Mato Grosso. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29. 2012, Águas de Lindóia. **Anais**. Águas de Lindóia, Embrapa Milho e Sorgo, 2012. p. 854-859.

MESQUINI, R. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; VIEIRA, R. A.; NASCIMENTO, J. F. Controle e progresso temporal da ferrugem asiática da soja sob controle alternativo em campo. **Summa Phytopathologica**, v. 37, p. 24-29, 2011.

MOLINARI, S.; BASER, N. Induction of resistance to root-knot nematodes by SAR elicitors in tomato. **Crop Protection**, v. 29, p. 1354-1362, 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**, v. 25, p. 491-496, 2003.

OKA, Y.; TKACHI, N.; MOR, M. Phosphite inhibits development of the nematode *Heterodera avenae* and *Meloidogyne marylandi* in cereals. **Nematology**, v. 97, p. 396-404, 2007.

OWEN, K. J.; GREEN, C. D.; DEVERALL, B. J. Systemic acquired resistance against root-knot nematodes in grapevines. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 7. 1998, Edinburg. **Proceedings**. Edinburg, International Society for Plant Pathology, 1998.s.n.

PUERARI, H. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; DADAZIO, T. S.; MATTEI, D.; SILVA, T. R. B.; RIBEIRO, R. C. F. Evaluation of acibenzolar-S-methyl for the control of *Meloidogyne javanica* and effects on the development of susceptible and resistant soybean. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, p. 44-48, 2013a.

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

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

SCHRÖETTER, S.; ANGELES-WEDLER, D.; KREUZIG, R.; SCHNUG, E. Effects of phosphite on phosphorus supply and growth of corn (*Zea mays*). **Landbauforschung Volkenrodxe**, v. 56, p. 87-99, 2006.

SEVERINO, J. J.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; TESSMANN, D. J. Nematodes associated with sugarcane in Sandy soils in Paraná, Brazil. **Nematropica**, v. 40, p. 111-119, 2010.

SILVA, G. S.; FERRAZ, S.; SANTOS, J. M. Histopatologia de raízes de Crotalária parasitadas por *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, p. 46-48, 1990.

SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, J. R.; DUTRA, M. R.; CAMPOS, V. P. Aumento da resistência de cultivares de tomate a *Meloidogyne incognita* com aplicação de acibenzolar-S-metil. **Nematologia Brasileira**, v. 28, p. 199-206, 2004.

SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, J. R.; CAMPOS, V. P.; DUTRA, M. R. Época de aplicação do acibenzolar-S-metil e da abamectina no controle de *Meloidogyne* sp. em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 194, 2002.

SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, J. R.; DUTRA, M. R.; CAMPOS, V. P. Aumento da resistência de cultivares de tomate a *Meloidogyne incognita* com aplicação de acibenzolar-S-metil. **Nematologia Brasileira**, v. 28, p. 199-206, 2004.

Capítulo 2

**Atividade enzimática induzida por acibenzolar-S-metil no controle de
Pratylenchus brachyurus em milho**

Atividade enzimática induzida por acibenzolar-S-metil no controle de
Pratylenchus brachyurus em milho

RESUMO

Pratylenchus brachyurus encontra-se entre os principais nematoides na cultura do milho, sendo seu controle complexo. Diante disto, novas formas de controle têm sido estudadas, entretanto, pouco se sabe a respeito do modo de ação dos indutores de resistência frente ao controle deste nematoide. Logo, objetivou-se avaliar a atividade de enzimas relacionadas à defesa de plantas no controle do nematoide *P. brachyurus* em plantas de milho tratadas com acibenzolar-S-metil (ASM). Para isso, plantas de milho foram submetidas aos tratamentos: plantas inoculadas com *P. brachyurus* e tratadas com ASM (IT), plantas inoculadas e não tratadas (INT), plantas não inoculadas e tratadas (NIT) e plantas não inoculadas e não tratadas (NINT). O ASM foi pulverizado aos 10 dias após a emergência das plantas e o nematoide inoculado (800 espécimes planta⁻¹) no momento da semeadura. A cada cinco (experimento 1) e dois dias (experimento 2) após tratamento, as plantas foram coletadas, analisando-se parte aérea e raiz, quanto à atividade das enzimas peroxidase de guaiacol (POX), polifenoloxidase (PPO), fenilalanina amônia-liase (PAL) e β -1,3-glucanase (GLU). Aos 30 e 60 dias, realizou-se a avaliação dos parâmetros nematológicos. O ASM foi capaz de reduzir a população do nematoide nas raízes do milho quando comparado à testemunha. Maior atividade de todas as enzimas foi observada nas raízes de milho, principalmente aos cinco e seis dias após tratamento em plantas pulverizadas com o produto. Na parte aérea, com exceção da enzima PAL, as enzimas também apresentaram maior atividade nas plantas tratadas com ASM.

Palavras-chave: Controle alternativo. Indução de resistência. Nematoides das lesões radiculares. Proteínas relacionadas a defesa. *Zea mays*.

Enzymatic activity induced by acibenzolar-S-metil to *Pratylenchus
brachyurus* control in maize

ABSTRACT

Pratylenchus brachyurus is one of the main nematodes in the maize crop and its control is complex. In view of this, new forms of control have been studied, however little is known about the action mode of resistance inducers against the control of this nematode. Therefore, the objective of this work was to evaluate the activity of defense-related enzymes in the control of the *P. brachyurus* nematode in maize plants treated with acibenzolar-S-methyl (ASM). For this, maize plants were submitted to four treatments: plants inoculated with *P. brachyurus* and treated with ASM (IT), inoculated and not treated (INT), not inoculated and treated (NIT) and not inoculated and not treated plants (NINT). The ASM was sprayed ten days after germination and the nematode inoculated (800 specimens plant⁻¹) at the time of sowing. Each five (experiment 1) and two (experiment 2) days after application, the plants were collected and analyzed the aerial part and roots tissues for the enzymatic analysis of the guaiacol peroxidase (POX), polyphenol oxidase (PPO), phenylalanine ammonia lyase (PAL) and β -1,3-glucanase (GLU) enzymes. At 30 and 60 days, the nematological parameters were evaluated. ASM reduced the nematode population in maize roots when compared to control. In addition, it was observed higher activity of all enzymes in the maize roots, especially at five and six days after treatment in plants sprayed with the product. In the aerial part, with the exception of the PAL enzyme, the enzymes also presented greater activity in the plants treated with ASM.

Keywords: Alternate control. Resistance induction. Root lesions nematodes. Defence related proteins. *Zea mays*.

INTRODUÇÃO

O estudo da indução de resistência objetivando o controle de nematoides tem sido relatado com maior frequência nos últimos anos. Atualmente, é possível encontrar trabalhos utilizando diferentes elicitores, frente a uma ampla gama de fitonematoides em distintas culturas (OOSTENDORP et al., 2001; DIAS-ARIEIRA et al., 2012; PUERARI et al., 2013; HERNANDES et al., 2017).

A indução de resistência é desencadeada por um sinal externo (elictor), que se liga a um possível receptor presente na superfície da célula vegetal, transmitindo um sinal primário, ativando os mensageiros secundários e promovendo a expressão de genes específicos, responsáveis pela produção de proteínas determinantes para resistência em plantas (LEITE; PASCHOLATI, 1997). Dentre as principais proteínas relacionadas ao processo de indução de resistência, fenilalanina amônia-liase (PAL), peroxidase (POX), polifenoloxidase (PPO) e β -1,3-glucanase (GLU) são comumente associadas ao aumento de resistência de plantas a nematoides (VASYUKOVA et al., 2007; SAHEBANI; HADAVI; ZADE, 2011; MOSTAFANEZHAD; SAHEBANI; ZARGHANI, 2014; NIKOO et al., 2014; MEDEIROS et al., 2015).

No processo de indução de resistência, cada enzima assume um papel diferente. Neste contexto, PAL é responsável por catalisar a primeira reação na rota dos fenilpropanoides, convertendo L-fenilalanina em ácido cinâmico. A atividade desta enzima tem sido relatada no processo de lignificação, fornecendo precursores do ácido hidroxicinâmico e aumentando a síntese de espécies fenólicas requeridas no processo de defesa (NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992). PPO está associada à catálise da o-hidroxilação de monofenóis a o-difenóis e pela oxidação de o-difenóis em o-quinonas, compostos estes de alta toxicidade (DAS et al., 2010). POX, promove a catálise da oxidação de compostos fenólicos, oriundos da rota de fenilpropanoides, pela redução do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), sendo funcional em uma ampla gama de processo fisiológicos normais ou relacionados ao estresse, incluindo lignificação e suberização (PASSARDI; PENEL; DUNAND, 2004). Enquanto GLU é responsável pela hidrólise de polímeros de β -1,3-glucana, que podem atuar como elicitores da resposta de defesa ativas do hospedeiro (YOSHIKAWA; YAMAOKA; TAKEUCHI, 1993; LEVY et al., 2007).

Acibenzolar-S-metil (ASM) é um dos principais indutores estudados no controle de nematoides, sendo um análogo ao ácido salicílico (AS), relacionado à ativação de mecanismos,

semelhantes ao observado na resistência sistêmica adquirida (SAR), promovendo a expressão de proteínas relacionadas a patogênese (DURRANT; DONG, 2004; MOLINARI; BASER, 2010; CHINNASRI; SIPES; SCHMITT, 2003; SALGADO; RESENDE; CAMPOS, 2007). Estudos envolvendo a aplicação de ASM objetivando o controle de nematoides sedentários têm correlacionado a redução na população deste patógeno ao aumento na produção de peróxido de hidrogênio e na atividade das enzimas peroxidase e β -1,3-glucanase (OWEN; GREEN; DEVERALL, 2002; ARYAL et al., 2011; MELILLO; LEONETTI; VERONICO, 2014).

No caso específico do controle de *P. brachyurus* pela aplicação foliar de ASM, foi observado redução na população final do nematoide na cultura do milho aos 60 dias após o tratamento (PUERARI et al., 2015; CARDOSO et al., 2016). Em outro estudo, o ASM apresentou respostas semelhantes às obtidas pela RSA, promovendo a expressão de duas proteínas relacionadas à patogênese, PR1 e PR5, na parte aérea de plântulas de milho (MORRIS et al., 1998).

Apesar do potencial de controle deste patógeno pelo ASM e de sua capacidade indutiva de proteínas relacionadas à patogênese, ainda não há estudos sobre a atividade das principais enzimas de defesa no controle de *P. brachyurus*. Assim, o presente trabalho teve como objetivo analisar a atividade das enzimas peroxidase de guaiacol, polifenoloxidase, fenilalanina amônia-liase e β -1,3-glucanase em milho tratado com ASM e sua interação na presença do nematoide *P. brachyurus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos foram realizados em casa-de-vegetação, nas coordenadas geográficas 23°47'34,5'' S e 53°15'22,1'' W, nos períodos de 15/02 a 20/04/2016 (experimento 1) e 05/10 a 13/11/2016 (experimento 2). Os experimentos foram constituídos por quatro tratamentos: plantas inoculadas com *P. brachyurus* e tratadas com ASM (IT), plantas não inoculadas e tratadas (NIT), plantas inoculadas e não tratadas (INT) e plantas não inoculadas e não tratadas (NINT). Para isso, duas sementes de milho cv. AL. Bandeirantes foram semeadas em cada vaso contendo 700 mL de substrato composto por uma mistura de solo e areia 2:1 (v:v), previamente autoclavado (120 °C 2 h⁻¹).

Após a germinação, realizou-se o desbaste, mantendo uma plântula por copo. Dez dias após a germinação, cada plântula de milho foi inoculada com 4 mL de solução, contendo 800 espécimes de *P. brachyurus*. O inóculo foi obtido de população pura do nematoide, mantida em soja sob condições de casa de vegetação. Para obtenção do inóculo, o sistema radicular das plantas foi

retirado, cuidadosamente lavado e submetido ao método de extração proposto por Coolen; D'Herde (1972). A suspensão foi calibrada para 200 espécimes mL⁻¹, utilizando câmara de Peters sob microscópio óptico, sendo posteriormente, aplicada em quatro orifícios (1 mL orifício⁻¹) de 3 cm de profundidade, abertos no solo ao redor de cada plântula, os quais, foram fechados após inoculação. A aplicação do ASM foi realizada no mesmo dia da inoculação, quando as plântulas apresentavam-se em estágio V1 (uma folha totalmente expandida), pulverizando-se a parte aérea das plântulas com o produto, na dose de 0,5 g L⁻¹ de produto comercial (Bion 500[®], Syngenta) até o ponto de escoamento superficial. Plantas não tratadas foram pulverizadas com água.

As amostras de tecido vegetal para a análise enzimática foram coletadas em épocas distintas para cada experimento. No experimento 1 as amostras foram coletadas em três épocas diferentes, 5, 10 e 15 dias após tratamento (DAT), enquanto no experimento 2, foram coletadas em cinco épocas diferentes, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 DAT. Para isso, cinco plantas de cada tratamento foram retiradas e o sistema radicular lavado para a retirada do solo. Posteriormente, foi recolhido aproximadamente, 0,5 g do tecido foliar (terceira folha parcialmente expandida) e 0,5 g do tecido radicular (porção mediana do sistema radicular), os quais foram colocados em envelopes de papel alumínio identificados e mantidos em gelo, para posterior congelamento em freezer até o momento da extração das amostras. Cinco plantas dos tratamentos inoculados foram mantidas até os 30 e 60 dias após a inoculação (experimento 1) e 30 dias após inoculação (experimento 2), para avaliação dos parâmetros nematológicos. As raízes foram lavadas, colocadas em papel absorvente para retirar o excesso de água e pesadas. Então, foram submetidas ao processo de extração conforme metodologia citada anteriormente, sendo posteriormente quantificados em câmara de Peters e microscópio de luz.

Para as análises enzimáticas, as amostras foram maceradas em almofariz com nitrogênio líquido, adicionando-se 1% (v/v) de polivinilpirrolidona (PVP) e 4 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0, contendo 0,1 mM de EDTA. Os extratos foram centrifugados a 21.155g (14.500 rpm) por 30 minutos a 4 °C e o sobrenadante, denominado extrato enzimático, transferido para microtubos de 1,5 mL e armazenados em freezer (-8 °C), para posterior quantificação de proteínas e determinação da atividade enzimática, na qual para cada amostra realizou-se a avaliação em duplicata.

O teste de Bradford foi empregado para a quantificação do conteúdo total de proteínas presentes nas amostras (BRADFORD, 1976). Para isso, 50 μL do extrato enzimático foi adicionado, sob agitação, a 2,5 mL do reagente de Bradford. Após 5 min. foi efetuada a leitura da absorbância a 595 nm em espectrofotômetro (modelo UV 5200S, Global Trade Technology). A concentração de proteínas, expressa em mg mL^{-1} de amostra, foi determinada utilizando-se a curva-padrão de concentrações obtidas através da albumina de soro bovino (ASB).

A atividade da enzima peroxidase de guaiacol (POX; EC 1.11.1.7) foi obtida pela leitura da conversão do guaiacol em tetraguaiacol na presença de peróxido de hidrogênio, através da mistura de 2,9 mL de substrato e 100 μL de extrato enzimático, em espectrofotômetro a 470 nm. O substrato foi composto de 7,25 μL de guaiacol e 8,874 μL de H_2O_2 , diluídos em tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), sendo mantido em banho-maria a 30 °C durante as análises. Os resultados foram expressos em $\Delta_{\text{abs}} 470 \text{ nm min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína (LUSSO; PASCHOLATI, 1999).

Já a atividade da enzima polifenoloxidase (PPO; EC 1.10.3.2) foi obtida pela mistura de 900 μL do substrato e 100 μL do extrato enzimático, no qual o substrato foi composto por catecol, na concentração de 20 mM, dissolvido em tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 6,8), mantida em banho-maria a 30 °C. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 420 nm, havendo a oxidação do catecol a quinona, sendo os resultados expressos em $\Delta_{\text{abs}} 420 \text{ nm min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína (DUANGMAL; APENTEM, 1999).

A atividade de fenilalanina amônia-liase (PAL; EC 4.3.1.5) foi determinada através da mistura de 100 μL do extrato enzimático a 400 μL de tampão Tris-HCl 0,025 M (pH 8,8) e 500 μL de solução de L-fenilalanina 0,05 M (825,9 mg diluído em 100 mL de tampão Tris-HCL 0,025 M, pH 8,8). Esta mistura foi incubada a 40 °C durante 2 h. Ao final deste período, foi adicionado 60 μL de HCl 5 M para cessar a reação, seguindo-se a leitura em espectrofotômetro a 290 nm. A atividade de PAL foi obtida pela diferença entre a absorbância da mistura contendo a amostra e do controle (sem adição de L-fenilalanina), ao qual foi plotada em curva padrão para ácido transcinâmico e expressa em $\text{mg de ácido transcinâmico h}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína (UMESHA, 2006).

A atividade de β -1,3-glucanases (GLU; EC 3.2.1.6) foi determinada pela quantificação colorimétrica de açúcares redutores liberados a partir da laminarina (VOGELSANG; BARZ, 1993). Para tanto, 150 μL do extrato enzimático foram adicionados a 150 μL de laminarina (2 mg

mL⁻¹), enquanto nas amostras controle, não houve adição da laminarina. A reação foi mantida a 40 °C durante 60 minutos, em banho-maria. Decorrido este período, adicionou-se 150 µL de laminarina nas amostras controle antes da determinação de açúcares. Após o período de incubação, os açúcares redutores formados foram quantificados através da transferência de uma alíquota de 50 µL dos tubos incubados e adicionado 1,5 mL de solução de hidrazida do ácido p-hidroxibenzóico (PAHBAH) 0,5% em NaOH 0,5 M (LEVER, 1972). A mistura foi mantida a 100 °C por 10 min e resfriada em banho de gelo. A leitura das absorvâncias foi realizada a 410 nm, em espectrofotômetro, descontando-se os valores de absorvância do branco. A quantidade de açúcares foi determinada utilizando-se a curva-padrão de glicose e os valores expressos em equivalente mg de glicose h⁻¹ mg⁻¹ de proteína.

Para ambos experimentos, adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições para cada tratamento. Os dados obtidos foram transformados em \sqrt{x} e submetidos a análise de variância (ANOVA). Quando significativo, as médias do parâmetro população final foram comparadas pelo teste t (LSD) 5% de probabilidade. As leituras de teor proteico e atividade enzimática foram realizadas em duplicata para cada uma das repetições. As médias de cada enzima foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e analisadas em esquema fatorial 4x3 (tratamento x época) no experimento 1 e 4x6 no experimento 2, na ocorrência de interação, houve o desdobramento das mesmas. As análises foram realizadas utilizando o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS

A aplicação de ASM proporcionou reduções equivalentes a 70,8 e 59,2% na população final de nematoide sistema⁻¹ radicular, no experimento 1, aos 30 e 60 DAT, respectivamente, e redução de 65,4% aos 30 DAT no experimento 2, quando comparados ao tratamento em que não houve aplicação de ASM (Tabela 2.1).

Para a atividade da enzima POX, foi observada interação entre os fatores tratamento e época. Em relação ao fator tratamentos, constatou-se aumento na média total da atividade da enzima na parte aérea das plantas quando se realizou a aplicação do ASM, tanto nas plantas inoculadas (IT) como nas não inoculadas (NIT), quando comparados aos controles inoculado não tratado e (INT) e não inoculado e não tratado (NINT), no experimento 1 (Tabela 2.2). Quanto ao

fator época, maiores médias totais de atividade da POX foram obtidas aos 15 DAT. Em relação à interação entre os fatores, houve maior atividade da enzima POX para o tratamento IT aos 5 DAT quando comparado aos demais tratamentos. Aos 10 DAT, os tratamentos com ASM (IT e NIT) foram estatisticamente iguais, porém ambos apresentaram valores superiores aos controles inoculado (INT) e não inoculados (NINT). Já aos 15 DAT, notou-se maior atividade da enzima POX para o tratamento NIT, seguido pelo tratamento IT e controle inoculado (INT), este último, mostrou-se estatisticamente igual ao controle não inoculado (NINT) (Tabela 2.2).

Tabela 2.1 Número de *Pratylenchus brachyurus* por grama de raiz (população final) e porcentagem de redução em comparação à testemunha em milho avaliado aos 30 e 60 dias (experimento 1) e aos 30 dias após tratamentos (experimento 2) com acibenzolar-S-metil

Tratamentos	Número de nematoides g ⁻¹ raiz	Porcentagem de redução
Experimento 1 - 30 dias após tratamento		
Planta inoculada e tratada	306 B	70,8
Planta inoculada e não tratada	594 A	-
CV (%)	11,26	
Experimento 1 - 60 dias após tratamento		
Planta inoculada e tratada	901 B	59,1
Planta inoculada e não tratada	2450 A	-
CV (%)	23,82	
Experimento 2 - 30 dias após tratamento		
Planta inoculada e tratada	310 b	65,4
Planta inoculada e não tratada	676 a	-
CV (%)	11,48	

Dentro de cada época de avaliação, médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste t a 5% de probabilidade; CV= coeficiente de variação;

Para a atividade da PPO, não houve interação entre os fatores tratamento e época, sendo estes significativos apenas quando analisados separadamente, no qual para o fator tratamento, maiores atividades foram observadas nas plantas que receberam ASM (IT e NIT) quando comparados aos controles (INT e NINT), enquanto, para época, maiores atividades foram obtidas aos 15 DAT (Tabela 2.2).

Assim como observado para enzima POX, também houve interação entre os fatores para enzima PAL no tecido foliar de milho. Porém, para as médias totais do fator tratamento, apenas o controle não inoculado (NINT) diferiu significativamente dos demais, apresentando menor atividade. Com relação à interação dos fatores, maior atividade foi observada para o tratamento

NIT aos 5 DAT, enquanto o tratamento INT mostrou menor atividade aos 5 DAT. Menor atividade também foi observada para o controle não inoculado (NINT) aos 10 e 15 DAT, em relação aos demais tratamentos (Tabela 2.2).

Nas raízes de milho, foi observado significância para os fatores tratamento e época, assim como a interação de ambos na atividade das enzimas PPO e PAL. Enquanto para enzima POX, não houve significância para o fator época e para interação entre os fatores (Tabela 2.3).

Tabela 2.2 Atividade específica das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase em folhas de plantas de milho inoculado com 800 espécimes de *P. brachyurus* e tratado ou não com acibenzolar-S-metil, analisadas no experimento 1

Peroxidase ($\Delta_{\text{abs}} 470 \text{ nm min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína)				
Tratamentos	Dias após tratamento			Média Total
	5	10	15	
IT	38,66 a A	44,73 a A	39,95 b A	41,07 a
INT	13,42 c B	14,31 b B	33,94 bc A	19,57 b
NIT	25,85 b B	49,72 a A	60,79 a A	44,14 a
NINT	13,15 c B	22,20 b A	22,97 c A	19,16 b
Média total	21,60 C	30,90 B	38,24 A	CV(%) 11,97
Polifenoloxidase ($\Delta_{\text{abs}} 420 \text{ nm min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína)				
Tratamentos	Dias após tratamento			Média Total
	5	10	15	
IT	1,29 ns	1,39 ns	1,53 ns	1,40 a
INT	0,77	0,71	1,23	0,89 b
NIT	1,68	1,32	2,13	1,69 a
NINT	0,83	0,50	0,81	0,70 b
Média total	1,1113 B	0,9413 B	1,3858 A	CV(%) 13,63
Fenilalanina amônia-liase ($\text{mg de ácido trans-cinâmico h}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína)				
Tratamentos	Dias após tratamento			Média Total
	5	10	15	
IT	0,043 b A	0,061 a A	0,068 a A	0,057 ab
INT	0,025 c C	0,053 a B	0,086 a A	0,051 b
NIT	0,088 a A	0,062 a AB	0,059 a B	0,069 ab
NINT	0,045 b A	0,023 b B	0,036 b AB	0,034 c
Média total	0,0480 B	0,0488 B	0,0607 A	CV(%) 14,00

Médias seguidas de mesma letra minúscula em coluna e letras maiúsculas em linha não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; IT= plantas inoculadas com *P. brachyurus* e tratadas com ASM; INT= plantas inoculadas com *P. brachyurus* e não tratadas com ASM; NIT= plantas não inoculadas com *P. brachyurus* e tratadas com ASM; NINT= plantas não inoculadas com *P. brachyurus* e não tratadas com ASM; ns= não significativo; CV= coeficiente de variação.

Para o fator tratamento pode-se observar aumento da atividade das enzimas POX, PPO e PAL na média total do tratamento IT quando comparado aos demais, enquanto o tratamento NIT apresentou maior média total para a atividade das enzimas POX e PAL, quando comparado aos controles inoculado (INT) e não inoculado (NINT) no experimento 1 (Tabela 2.3). Já as médias totais para o fator época das enzimas PPO e PAL mostrou maior atividade aos 15 DAT, quando comparados às demais épocas.

Tabela 2.3 Atividade específica das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase em raízes de plantas de milho inoculado com 800 espécimes de *P. brachyurus* e tratado ou não com acibenzolar-S-metil, analisadas no experimento 1

Peroxidase ($\Delta_{\text{abs}} 470 \text{ nm min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ de proteína}$)				
Tratamento	Dias após tratamento			Média total
	5	10	15	
IT	483,46 ns	389,70 ns	492,31 ns	453,93 a
INT	93,69	142,62	124,20	119,29 c
NIT	298,91	332,46	302,49	310,92 b
NINT	116,01	148,67	109,87	124,29 c
Média total	222,95 ns	241,10 ns	234,14 ns	CV(%) 11,12
Polifenoloxidase ($\Delta_{\text{abs}} 420 \text{ nm min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ de proteína}$)				
Tratamento	Dias após tratamento			Média total
	5	10	15	
IT	8,68 a A	1,95 a B	7,56 a A	5,60 a
INT	1,25 b A	2,25 a A	2,63 bc A	2,00 b
NIT	0,91 b B	2,08 a B	5,28 ab A	2,45 b
NINT	1,31 b A	1,82 a A	1,89 c A	1,66 b
Média total	2,38 B	2,0232 B	4,0534 A	CV(%) 25,64
Fenilalanina amônia-liase ($\text{mg de ácido trans-cinâmico h}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$)				
Tratamentos	Dias após tratamento			Média total
	5	10	15	
IT	0,847 a A	0,427 a B	1,145 a A	0,776 a
INT	0,237 b A	0,219 b A	0,159 c A	0,204 c
NIT	0,269 b B	0,454 a A	0,593 b A	0,428 b
NINT	0,205 b A	0,290 ab A	0,266 c A	0,252 c
Média total	0,353 B	0,341 B	0,474 A	CV(%) 16,01

Médias seguidas de mesma letra minúscula em coluna e letras maiúsculas em linha não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; IT= plantas inoculadas com *P. brachyurus* e tratadas com ASM; INT= plantas inoculadas com *P. brachyurus* e não tratadas com ASM; NIT= plantas não inoculadas com *P. brachyurus* e tratadas com ASM; NINT= plantas não inoculadas com *P. brachyurus* e não tratadas com ASM; ns= não significativo; CV= coeficiente de variação.

Com relação à atividade da enzima PPO nas raízes, houve maior atividade para o tratamento IT aos 5 e 15 DAT em relação aos controles inoculado e não inoculado (INT e NINT), porém aos

10 DAT não houve diferença significativa entre os tratamentos estudados (Tabela 2.3). Aos 15 DAT, o controle não inoculado (NINT) apresentou menor atividade PPO em relação aos demais tratamentos. Já para a enzima PAL, observou-se maior atividade em raízes de milho para o tratamento IT, quando comparado aos controles (INT e NINT), independente da época analisada e ao tratamento NIT aos 5 e 15 DAT (Tabela 2.3). Além disto, observou-se maior atividade da PAL quando comparado aos controles inoculado (INT), aos 10 e 15 DAT e ao controle não inoculado (NINT) aos 15 DAT.

No experimento 2, houve significância para os fatores tratamento e época, bem como para a interação entre os mesmos, independente do tipo de enzima analisada no tecido foliar (Tabela 2.4). Para fator tratamento, foi observado maior atividade das enzimas POX e PPO, nas médias totais das plantas que receberam ASM (IT e NIT), quando comparadas aos controles sem produto (INT e NINT). Para a enzima PAL, o tratamento NIT apresentou maior atividade na média geral e o tratamento IT menor atividade desta enzima quando comparado aos demais. Em relação ao fator época, foi observado aumento na atividade de todas enzimas ao longo das épocas estudadas, havendo maior média geral de atividade aos 12 DAT, com exceção da enzima β -1,3-glucanase, para a qual houve maior expressão aos 2, 4 e 12 DAT (Tabela 2.4).

A enzima POX apresentou maior atividade nos tratamentos com a aplicação do ASM (IT e NIT) em relação aos controles (INT e NINT), independente da época (Tabela 2.4). O controle inoculado (INT) só foi estatisticamente superior ao controle não inoculado (NINT), aos 10 DAT. Semelhantemente, os tratamentos tratados (IT e NIT) apresentaram maior atividade da enzima PPO em relação ao controle não inoculado (NINT), independente da época, enquanto o controle inoculado (INT) apresentou maior atividade PPO aos 6, 10 e 12 DAT quando comparado ao controle não inoculado (NINT).

A atividade da enzima PAL foi maior apenas para o tratamento com aplicação do ASM (NIT) em comparação ao controle não inoculado (NINT) em todas as épocas avaliadas (Tabela 2.4). Já os tratamentos IT e NIT foram estatisticamente iguais ao controle inoculado (INT), aos 2 e 6 DAT e aos 4, 8, 10 e 12 DAT, respectivamente (Tabela 2.4). Quanto à enzima GLU, observou-se maior atividade aos 4, 6 e 12 DAT do tratamento IT, em relação aos demais tratamentos. Já o tratamento NIT apresentou maior atividade desta enzima aos 2 e 8 DAT, porém com valores iguais

ao tratamento IT aos 8 DAT. Não houve diferença estatística entre os tratamentos aos 10 DAT (Tabela 2.4).

Em relação à atividade destas quatro enzimas nas raízes de milho, semelhantemente ao observado nas folhas, houve significância para cada um dos fatores, assim como para a interação de ambos, independente da enzima avaliada (Tabela 2.5). POX e GLU apresentaram maiores valores de média total do fator tratamento quando tratadas com ASM, com ou sem inoculação (IT e NIT) em comparação aos controles em que não se aplicou o produto (INT e NINT) (Tabela 2.5). Já para as enzimas PPO e PAL, o tratamento IT apresentou maiores valores de média total do fator tratamento, seguido pelo tratamento NIT, em relação aos controles inoculado e não inoculado (INT e NINT). Para o fator época, maiores médias totais foram observadas aos 10 e 12 DAT para POX, aos 12 DAT para PPO, aos 8 e 10 DAT para PAL e aos 12 DAT para a enzima GLU.

Analisando a interação entre os fatores, para a enzima POX houve maior atividade no tratamento IT aos 2, 4, 6, 8, 10 e 12 DAT em relação aos controles (INT e NINT). Já aos 2 DAT, o tratamento IT apresentou maior atividade do que o tratamento NIT e aos 4 DAT ambos os tratamentos foram estatisticamente iguais ao controle não inoculado, NINT (Tabela 2.5). O tratamento em que houve apenas a aplicação do ASM (NIT), foi estatisticamente igual ao tratamento IT aos 4, 6, 8, 10 e 12 DAT, e superior aos controles aos 2, 10 e 12 DAT. Para PPO, o tratamento IT apresentou maior atividade em relação aos demais tratamentos aos 10 DAT e valores estatisticamente diferentes ao controle não inoculado (NINT) em todas as épocas, exceto aos 4 DAT. Aos 2, 6 e 8 DAT não houve diferença entre os tratamentos com aplicação de ASM e o controle inoculado (INT).

Quanto a PAL, aos 2 e 4 DAT, o tratamento IT apresentou valores de atividade iguais aos controles (NIT e NINT), porém com maiores valores aos 6 e 10 DAT em relação aos demais tratamentos, e aos 12 DAT valores iguais ao tratamento NIT, mas superior aos controles (Tabela 2.5). Para GLU, o tratamento IT apresentou maior atividade enzimática aos 2 e 10 DAT em relação aos demais tratamentos e valores iguais ao tratamento NIT, aos 4, 6 e 8 DAT, mas ambos superiores aos controles (INT e NINT). Apenas aos 12 DAT, o tratamento NIT foi superior aos demais, seguido pelos tratamentos IT e INT, apresentando menor atividade nesta época, o tratamento NINT.

Tabela 2.4 Atividade específica das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase em folhas de plantas de milho inoculado com 800 espécimes de *P. brachyurus* e tratado ou não com acibenzolar-S-metil, analisadas no experimento 2

Tratamentos	Dias após tratamento						Média total
	2	4	6	8	10	12	
Peroxidase ($\Delta_{\text{abs}} 470 \text{ nm min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína)							
IT	10,59 a D	10,43 a D	16,21 a AB	12,06 a CD	14,15 a BC	18,47 a A	13,50 a
INT	11,24 b B	5,91 b B	5,67 b B	5,67 b B	11,12 b A	13,90 b A	8,00 b
NIT	9,81 a C	10,08 a C	13,85 a B	13,85 a B	12,48 ab BC	20,26 a A	13,25 a
NINT	6,23 b B	6,61 b B	5,18 b B	5,18 b B	6,87 c B	11,64 b A	7,12 b
Média total	7,89 C	8,13 C	9,62 B	9,97 B	10,97 B	15,88 A	CV(%) 7,58
Polifenoloxidase ($\Delta_{\text{abs}} 420 \text{ nm min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína)							
IT	0,544 a C	0,574 a BC	0,787 a B	0,679 a BC	0,670 ab BC	1,185 a A	0,726 a
INT	0,470 ab BC	0,404 a BC	0,482 b BC	0,323 b C	0,584 b AB	0,721 b A	0,490 b
NIT	0,570 a C	0,543 a C	0,595 ab C	0,650 a BC	0,865 a AB	1,100 a A	0,708 a
NINT	0,362 b AB	0,244 b B	0,315 c AB	0,299 b B	0,391 c AB	0,469 c A	0,343 c
Média total	0,483 CD	0,430 D	0,531 BC	0,471 CD	0,615 B	0,842 A	CV(%) 10,04
Fenilalanina amônia-liase (mg de ácido trans-cinâmico h^{-1} mg proteína$^{-1}$)							
IT	0,018 ab A	0,005 b B	0,016 a A	0,006 b B	0,008 b AB	0,009 b AB	0,010 c
INT	0,009 bc C	0,036 a A	0,007 bc C	0,015 a BC	0,023 a AB	0,027 a AB	0,018 b
NIT	0,028 a AB	0,029 a AB	0,011 ab C	0,021 a BC	0,026 a AB	0,040 a A	0,025 a
NINT	0,006 c AB	0,003 b B	0,004 c B	0,004 b B	0,005 b B	0,013 b A	0,005 d
Média total	0,014 B	0,015 AB	0,009 C	0,010 BC	0,014 B	0,021 A	CV(%) 20,31
β-1,3-Glucanase (mg de glicose h^{-1} mg proteína$^{-1}$)							
IT	0,055 b B	0,056 a B	0,084 a A	0,053 a B	0,034 a C	0,084 a A	0,060 a
INT	0,037 c AB	0,021 c C	0,052 b A	0,027 b BC	0,022 a C	0,039 b AB	0,032 c
NIT	0,074 a A	0,033 b BC	0,044 bc B	0,039 ab BC	0,027 a C	0,045 b B	0,043 b
NINT	0,050 bc AB	0,029 bc C	0,034 c BC	0,033 b C	0,026 a C	0,052 b A	0,037 c
Média total	0,053 A	0,034 BC	0,052 A	0,037 B	0,027 C	0,053 A	CV(%) 10,6

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e letras maiúsculas na linha não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade; IT= plantas inoculadas com *P. brachyurus* e tratadas com ASM; INT= plantas inoculadas com *P. brachyurus* e não tratadas com ASM; NIT= plantas não inoculadas com *P. brachyurus* e tratadas com ASM; NINT= plantas não inoculadas com *P. brachyurus* e não tratadas com ASM; CV= coeficiente de variação;

Tabela 2.5 Atividade específica das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase em raízes de plantas de milho inoculado com 800 espécimes de *P. brachyurus* e tratado ou não com acibenzolar-S-metil, analisadas no experimento 2

Tratamentos	Dias após tratamento						Média total
	2	4	6	8	10	12	
Peroxidase ($\Delta_{\text{abs}} 470 \text{ nm min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína)							
IT	225,6 a A	108,3 a D	163,3 a BC	136,4 a CD	206,4 a AB	172,6 a ABC	166,3 a
INT	82,9 c AB	55,2 b B	107,5 bc A	73,4 b AB	91,0 b AB	112,2 b AB	85,9 b
NIT	134,6 b C	140,6 a BC	145,6 ab BC	102,8 ab C	215,7 a A	194,1 a AB	153,3 a
NINT	67,7 c B	108,5 a A	78,5 c Ab	71,4 b AB	74,4 b AB	90,8 b AB	81,3 b
Média total	120,8 AB	100,5 BC	121,4 AB	94,3 C	139,4 A	139,2 A	CV(%) 10,68
Polifenoloxidase ($\Delta_{\text{abs}} 420 \text{ nm min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína)							
IT	3,226 a AB	1,086 b C	2,474 a B	2,370 a B	4,458 a A	4,749 a A	2,913 a
INT	0,931 a C	1,063 b C	2,313 a A	2,038 a AB	1,196 b BC	2,688 b A	1,637 c
NIT	2,367 ab B	2,608 a B	1,880 ab B	1,816 a B	1,687 b B	4,213 a A	2,363 b
NINT	1,443 bc AB	1,881 ab A	1,287 b AB	0,702 b B	1,005 b AB	1,895 b A	1,332 c
Média total	1,891 B	1,600 B	1,959 B	1,659 B	1,895 B	3,283 A	CV(%) 15,16
Fenilalanina amônia-liase ($\text{mg de ácido trans-cinâmico h}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$)							
IT	0,017 a C	0,007 a C	0,049 a B	0,045 ab B	0,097 a A	0,045 a B	0,038 a
INT	0,003 b C	0,003 a C	0,009 b BC	0,054 a A	0,019 c B	0,019 b B	0,014 c
NIT	0,014 a C	0,004 a D	0,014 b CD	0,027 b BC	0,055 b A	0,032 abB	0,021 b
NINT	0,011 a B	0,002 a C	0,018 b AB	0,035 ab A	0,031 c A	0,024 b AB	0,018 bc
Média total	0,010 D	0,004 E	0,020 C	0,039 A	0,046 A	0,029 B	CV(%) 19,67
β-1,3-Glucanase ($\text{mg de glicose h}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$)							
IT	0,387 a AB	0,232 a C	0,308 a BC	0,387 a AB	0,490 a A	0,360 b ABC	0,356 a
INT	0,152 b BC	0,118 b C	0,170 b BC	0,219 bc AB	0,096 c C	0,319 b ABC	0,172 b
NIT	0,191 b C	0,240 a BC	0,368 a B	0,288 ab BC	0,188 b C	0,733 a A	0,313 a
NINT	0,191 c A	0,135 b A	0,108 b A	0,175 c A	0,173 bc A	0,197 c A	0,161 b
Média total	0,222 BC	0,177 C	0,226 BC	0,261 B	0,216 BC	0,380 A	CV(%) 13,19

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e letras maiúsculas na linha não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade; IT= plantas inoculadas com *P. brachyurus* e tratadas com ASM; INT= plantas inoculadas com *P. brachyurus* e não tratadas com ASM; NIT= plantas não inoculadas com *P. brachyurus* e tratadas com ASM; NINT= plantas não inoculadas com *P. brachyurus* e não tratadas com ASM; CV= coeficiente de variação;

DISCUSSÃO

O ASM foi eficiente em reduzir a população de nematoides raiz⁻¹ de *P. brachyurus*, independente do experimento, apresentando reduções de 59,2, 70,8 e 59,2% aos 30 e 60 DAT (experimento 1) e aos 30 DAT (experimento 2), respectivamente, quando comparado ao tratamento sem aplicação de ASM. A eficiência desta molécula em reduzir esta espécie de nematoide em milho foi anteriormente observada, quando o ASM foi aplicado em parte aérea aos sete e um dia após inoculação e aos sete dias antes da inoculação com *P. brachyurus*, utilizando a mesma cultivar de milho deste experimento (PUERARI et al., 2015). Além disto, o ASM também reduziu este nematoide quando aplicado via tratamento de sementes e pulverização em parte aérea 15 dias após germinação, em solo já infestado (CARDOSO et al., 2016). Vale ressaltar, que o ASM também apresentou resultados promissores para o controle deste e de outros nematoides na cultura da soja (CHINNASRI; SIPES; SCHMITT, 2003; PUERARI et al., 2013; BRITO et al., 2016; HOMIAK et al., 2017), bem como em outros patossistemas (NAHAR et al., 2011; SANTOS et al., 2013; MELILLO; LEONETTI; VERONICO, 2014; MEHER et al., 2015).

Possivelmente, os resultados obtidos para o controle do nematoide está direta ou indiretamente relacionado à atividade de enzimas ligadas à resistência de plantas a patógenos, uma vez que, constatou-se aumento na média total da atividade das enzimas POX e PPO nos tratamentos com a aplicação do ASM (com e sem nematoide), em comparação aos controles (com e sem nematoide), em ambos experimentos, tanto na parte aérea como no sistema radicular, demonstrando o caráter sistêmico da ação do produto. Além disto, o aumento na atividade enzimática promovida por ASM foi evidenciado em algodoeiro, com maior atividade das enzimas POX e catalase (ARYAL et al., 2011), e em tomateiro, no qual o ASM foi responsável pela indução na expressão de genes que codificam a produção da enzima POX aniônica no sistema radicular (MELILLO; LEONETTI; VERONICO, 2014).

Há relatos de que peroxidases podem promover o aumento da resistência de parede celular, atuando na formação de rede de extensinas insolúveis e de ligações covalentes entre resíduos de feruloil, além de participar da polimerização do hidroxinamil álcool em lignina (HIRAGA et al., 2001; De SOUZA et al., 2003; ALMAGRO et al., 2009; BARROS-RIOS et al., 2015; BENTO-SILVA; PATTO; BRONZE, 2017). Extensinas são glicoproteínas ricas em hidroxiprolina secretadas no apoplasto como monômeros solúveis, que são oxidados por peroxidases ancoradas à

pectina, promovendo a ligação cruzada destes monômeros criando uma rede insolúvel, densa e sólida na parede celular da planta, limitando a colonização do patógeno (FRY, 2004; PASSARDI et al., 2004; PASSARDI; PENEL; DUNAND, 2004). O acúmulo de extensina tem sido observado e correlacionado à ocorrência de danos mecânicos, estresse e resistência a doenças em plantas (ESQUERRE-TUGAYE; LAMPORT, 1979; MERKOUROPOULOS et al., 1999, LAMPORT et al., 2011).

Além disto, alguns estudos mostraram aumento na expressão de genes responsáveis pela codificação de diferentes tipos de extensinas durante interações entre plantas e nematoides sedentários, já que estes induzem a formação de células nutritoras, utilizando-se destas proteínas na expansão e multiplicação celular e, conseqüente, formação do sítio de alimentação (ITHAL et al., 2007; SZAKASITS et al., 2009). Entretanto, também foi observado aumento na concentração intercelular de extensinas nas células do córtex e periciclo, vizinhas aos sítios de alimentação, que podem promover aumento na resistência das paredes celulares, restringindo o tamanho dos sítios de alimentação, evidenciando um possível mecanismo de defesa da planta aos danos ocasionados pelo nematoide ou mesmo pela formação destes sítios (NIEBEL et al., 1993). Contudo, devido ao caráter migratório do gênero *Pratylenchus*, possivelmente a ação desta proteína não esteja restringida à expansão e multiplicação celular dos sítios de alimentação, mas ao aumento de resistência da parede celular.

Da mesma forma, na presença da peroxidase e peróxido de hidrogênio, os resíduos de feruloil podem se ligar uns aos outros, possibilitando a formação de ligações cruzadas entre os polissacarídeos que foram esterificados a estes resíduos (FRY; WILLIS, PATERSON; 2000; RALPH et al., 2004; ALMAGRO et al., 2009). O resíduo de feruloil é resultante da ligação do ácido ferúlico aos polissacarídeos de parede celular, mais especificamente, aos resíduos de arabinopiranosose da hemicelulose arabinoxilana por ligações do tipo éster (ADAMS et al., 2004; FRY, 2004). O ácido ferúlico é sintetizado pelas plantas através do ácido cafeico, composto este, intermediário da rota dos fenilpropanoides, pela ação da enzima catecol-*O*-metiltransferase (ZHAO; MOGHADASIAN, 2010). Estudo realizado *in vitro* com suspensão de células não lignificadas de milho e submetido a diferentes misturas de enzimas degradativas de parede celular, mostraram que ligações cruzadas de diferulatos (resíduos de feruloil) reduziram a acessibilidade de enzimas hidrolíticas aos polissacarídeos presentes na parede celular (GRABBER; HATÜELD;

RALF, 1998). Logo, maior número de ligações cruzadas com diferulatos esterificados promove o aumento na rigidez de parede celular dificultando sua degradação enzimática (BUNZEL; FUNK; STEINHART, 2004; PEDERSEN et al., 2015).

Assim, supõe-se que a presença de ligações entre ácidos ferúlicos na parede celular pode dificultar a atividade de enzimas de degradação de parede secretadas pelo nematoide, como xilanases, poligalacturonases, pectato liase e arabinases (WUYTS et al., 2007; HAEGEMAN et al., 2011; NICOL et al., 2011; JONES; FOSU-NYARKO, 2014). Estudos realizados com cultivares de banana resistente e suscetíveis a *Radopholus similis* Cobb ou *Pratylenchus coffeae* Goodey mostraram a presença de ácido ferúlico nas paredes das células do parênquima em cultivar resistente, ou mesmo maior proporção de ácido ferúlico e de arabinoses feruloladas em comparação às cultivares suscetíveis (WUYTS et al., 2007; VAGANAN et al., 2014). Além da importância estrutural, também foi observado o efeito direto do ácido ferúlico sobre nematoides, por promover forte redução na mobilidade e efeito tóxico (LC50 de 120 µg ml⁻¹) às espécies *Meloidogyne incognita* (Kofoid; White) Chitwood e *R. similis* (WUYTS; De WAELE; SWENNEN, 2006).

Uma terceira possível ação das enzimas peroxidase no processo de reforçamento de parede celular, está na sua capacidade de promover a desidrogenação oxidativa de monolignóis na planta (ÖNNERUD et al., 2002). Após o transporte de monolignóis para a parede celular, eles sofrem uma desidrogenação/oxidação pelas enzimas laccase e/ou peroxidase, permitindo assim o acoplamento cruzado destes polímeros e promovendo a polimerização da lignina, formando uma rede tridimensional (BOERJAN; RALPH; BAUCHER, 2003; ZHAO et al., 2013). O enrijecimento de parede celular, na maioria dos casos é resultado das ligações cruzadas pela enzima peroxidase dependente de peróxido de hidrogênio, podendo ser estimulado pela ação de danos, interação patógeno planta ou mesmo por meio da indução de resistência (ALMAGRO et al., 2009; POKHARE et al., 2012; SANKAR et al., 2017, MELILLO; LEONETTI; VERONICO, 2014).

Neste contexto, plantas de arroz tratadas com ácido β-aminobutírico (BABA), produto análogo do ácido salicílico e inoculadas com *Meloidogyne graminicola* Golden; Birchfield apresentaram maior produção de peróxido de hidrogênio, principal substrato para atividade da enzima peroxidase, e maior acúmulo de lignina e expressão de gene ligado a sua biossíntese (CHRISTENSEN et al., 2000; JI et al., 2015). O aumento na lignificação pode agir como um mecanismo de proteção estrutural, promovendo o endurecimento de parede celular e prevenindo o

acesso das enzimas degradativas, produzidas pelo nematoide, aos polissacarídeos de parede celular (GRABBER; HATFIELD; RALF, 1998; HIRAGA et al., 2001; HOLBEIN; GRUNDLER; SIDDIQUE, 2016). Reações semelhantes têm sido observadas em plantas geneticamente resistentes, como no estudo em que híbridos de *Musa* sp. resistentes a *R. similis* apresentaram maior atividade de peroxidase e polifenoloxidase, assim como, maior acúmulo de lignina nas raízes se comparados aos suscetíveis (SANKAR et al., 2017).

Soma-se às reações discutidas anteriormente, a atividade da PPO, responsável pela catálise da o-hidroxilação de monofenóis a o-difenóis e pela oxidação de orto-difenóis em orto-quinonas na presença de oxigênio, composto este de alta toxicidade a microrganismos (DAS et al., 2010; MISHRA; GAUTAM, 2016). Alguns autores, acreditam que esta enzima, juntamente a POX, esteja envolvida no processo de lignificação, através da oxidação de uma grande variedade de compostos fenólicos, contribuindo no processo polimerização da molécula de lignina (GOMEZ-VASQUEZ et al., 2004; MARJAMAA et al., 2009; ŽIVKOVIĆ et al., 2010). As quinonas, oriundas da oxidação gerada pela PPO, também podem sofrer ligações cruzadas com proteínas e outros compostos fenólicos, formando barreiras físicas, ou podem reagir com cadeias laterais nucleofílicas de determinados aminoácidos e proteínas, reduzindo a disponibilidade destas proteínas, assim como, a qualidade nutricional dos tecidos vegetais a herbívoros (BHONWONG et al., 2009; WAR et al., 2012; TARANTO et al., 2017).

Entretanto, vale ressaltar que neste estudo, a atividade PPO nas raízes, no experimento 1, não diferiu estatisticamente entre os tratamentos aos 10 dias, enquanto no experimento 2, houve diferença estatística para o tratamento IT apenas aos 10 e 12 DAT em comparação aos controles, sendo necessárias novas análises para melhor definir o fator época de máxima ativação. Porém, analisando-se as médias totais, os tratamentos com aplicação de ASM apresentaram maiores atividades para esta enzima.

Em pesquisas com aplicação de ácido β -aminobutírico (BABA) em tomateiro, foi observado maior atividade da enzima peroxidase em raízes infectadas por *M. incógnita* (SAHEBANI; HADAVI, 2009). Este mesmo produto foi eficiente em aumentar a atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase em raízes de tomateiro inoculadas com *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, com maiores incrementos de atividade dos quatro aos sete dias após inoculação (período final da avaliação), cinco dias após tratamento (SAHEBANI et al., 2011).

Já a atividade da PAL, em parte aérea, apresentou valores variáveis. Entretanto, quando analisada a atividade no sistema radicular, plantas tratadas e inoculadas mostraram maior atividade enzimática em ambos os experimentos. Fenilalanina amônia-liase é a enzima responsável por catalisar a primeira reação na rota dos fenilpropanoides, convertendo L-fenilalanina em ácido cinâmico (via do ácido chiquímico), sendo responsável pela produção de precursores de lignina (monolignóis) e de espécies fenólicas, requeridas no processo de defesa vegetal, atuando na forma compostos sinalizadores e precursores na produção de fitoalexinas (NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992).

A biossíntese do ácido clorogênico no sistema radicular de tomateiros, também foi apontada como responsável pela resistência a *M. incognita* (HOWLES et al., 1996). Possivelmente, isto deve-se ao fato do composto ser oriundo da rota dos fenilpropanoides em solanáceas e está relacionado à engenharia de defesa da planta, já que ao ser oxidado pela enzima PPO, gera quinonas reativas, responsáveis por limitar o desenvolvimento do nematoide e os danos ocasionados aos tecidos, devido à formação de ligações cruzadas entre componentes de parede celular no apoplasto (NIGGEWEG; MICHAEL; MARTIN, 2004; MEHER et al., 2015).

Evidências preliminares foram obtidas através de estudos comparativos entre plantas de mesma espécie (cultivares) resistentes e suscetíveis a algumas espécies de nematoides. Ao analisar a expressão de genes responsáveis por codificar a enzima PAL, observou-se aumento na expressão do gene *ZmPAL4* em raízes de híbridos de milho resistentes a *M. incognita*, e ausência nos suscetíveis, demonstrando assim o importante papel da PAL no controle deste nematoide em milho (STARR et al., 2014). Em estudos com cultivares resistentes aos nematoide migradores foi observado aumento na atividade das enzimas PPO, POX e PAL em raízes de banana resistentes a *P. coffeae* e *R. similis*, sendo neste último, também observado a produção de fenóis e lignina, quando comparados a cultivares suscetíveis (DEVI et al., 2007; KUMAR et al., 2008; SANKAR et al., 2017).

Constatou-se maior atividade da enzima β -1,3-glucanase nos tratamentos com aplicação do ASM, a partir de 4 DAT. Semelhantemente, ASM, aplicado via pulverização foliar, promoveu redução no número de ovos de *Meloidogyne* spp. em videira, sendo observado aumento na atividade desta enzima aos sete e 28 dias após aplicação do produto (OWEN; GREEN; DEVERALL, 2002). O papel desta enzima no controle de nematoides ainda não está bem

elucidado, mas acredita-se que age sobre os complexos de glicoproteínas e carboidratos presentes na superfície externa da cutícula do nematoide, podendo servir como fontes de substrato para atividade de glucanases e glicosidases, promovendo assim, a liberação de exoelicitores (BIRD, 1991; SUNDARARAJ; KATHIRESAN, 2012). Fato semelhante ocorre na ação desta enzima sobre os fungos, pois ela participa da hidrólise da parede das células das hifas, liberando exoglucanos, os quais agem como elicitores, amplificando respostas de defesa, sinergicamente com endoelicitores derivados da degradação de parede celular (SELA-BUURLAGE et al., 1993; EBEL; COSIO, 1994).

Em alfafa infectada por *P. penetrans* (Cobb) Chitwood; Oteifa verificou-se maior transcrição de RNAm relacionados à codificação da enzima β -1,3-glucanase em cultivares resistentes, quando comparadas às suscetíveis, assim como aumento na indução de transcriptomas relacionados à rota do fenilpropanoides e responsáveis pela codificação da enzima PAL (BALDRIDGE; O'NEILL; SAMAC, 1998). Já quando analisada a atividade desta enzima em cultivares de cana resistente a *Pratylenchus zae* Graham, observou-se maior atividade da enzima β -1,3-glucanase, em raízes e folhas, quando comparada a cultivar suscetível ao nematoide (SUNDARARAJ; KATHIRESAN, 2012).

Logo, o ASM foi capaz em induzir o aumento na atividade de enzimas relacionadas à defesa em milho, enzimas estas semelhantemente observadas em outros patossistemas submetidos ao processo de indução, bem como em plantas com expressão gênica de resistência e, possivelmente, a redução na reprodução do nematoide está relacionada ao aumento de resistência de parede celular, dificultando sua alimentação e movimentação, proporcionando redução na população de *P. brachyurus*.

CONCLUSÕES

O ASM reduziu a população do nematoide nas raízes do milho aos 30 e 60 dias após os tratamentos. Além disso, observou-se maior atividade das enzimas POX, PPO e GLU na parte aérea de plantas tratadas com ASM, enquanto para a enzima PAL, o controle inoculado apresentou valores semelhantes aos tratamentos que receberam o produto. No sistema radicular foi observado aumento na atividade das enzimas POX, PPO, PAL e GLU, nas plantas tratadas com ASM,

iniciando, principalmente, aos cinco e seis dias após aplicação e mantendo-se superiores até os 12 e 15 dias.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, E. L.; KROON, P. A.; WILLIAMSON, G.; GILBERT, H. J.; MORRIS, V. J. Inactivated enzymes as probes of the structure of arabinoxylans as observed by atomic force microscopy. **Carbohydrate Research**, v. 339, p. 579–590, 2004. DOI:10.1016/j.carres.2003.11.023
- ALMAGRO, L.; GÓMEZ, L. V. R.; BELCHI-NAVARRO, S.; BRU, R.; BARCELO, A. R.; PEDREN, M. A. Class III peroxidases in plant defence reactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 2, p. 377–390, 2009. DOI:10.1093/jxb/ern277
- ARYAL, S. K.; DAVIS, R. F.; STEVENSON, K. L.; TIMPER, P.; JI, P. Influence of infection of cotton by *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne incognita* on the production of enzymes involved in systemic acquired resistance. **Journal of Nematology**, v. 43, n.3–4, p. 152–159, 2011.
- BALDRIDGE, G. D., O'NEILL, N. R.; SAMAC, D. A. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) resistance to the root-lesion nematode, *Pratylenchus penetrans*: defense response gene mRNA and isoflavonoid phytoalexin levels in roots. **Plant Molecular Biology**, v. 38, p. 999-1010, 1998.
- BARROS-RIOS, J.; SANTIAGO, R.; JUNG, H. J. G.; MALVAR, R. A. Covalent cross-linking of cell-wall polysaccharides through esterified diferulates as a maize resistance mechanism against corn borers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 2206-2214, 2015.
- BENTO-SILVA, A.; PATTO, M. C. V.; BRONZE, M. R. Relevance, structure and analysis of ferulic acid in maize cell walls. **Food Chemistry**, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.012>
- BHONWONG, A.; STOUT, M. J.; ATTAJARUSIT, J.; TANTASAWAT, P. Defensive role of tomato polyphenol oxidases against cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) and beet armyworm (*Spodoptera exigua*). **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, p. 28–38, 2009. DOI 10.1007/s10886-008-9571-7
- BIRD, A. F.; BIRD, J. **The Structure of Nematodes**. Ed. 2nd. Academic Press, San Diego, CA, 1991, p. 44–74.
- BOERJAN, W.; RALPH, J.; BAUCHER, M. Lignin biosynthesis. **Annual Review Plant Biology**, v. 54, p. 519–546, 2003.
- 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**, Amsterdam, 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. 2016. Application methods and concentrations of acibenzolar-S-methyl to *Meloidogyne javanica* management in soybean. **Nematropica**, v. 46, p. 106-113, 2016.
- BUNZEL, M.; FUNK, C.; STEINHART, H. Semipreparative isolation of dehydrodiferulic and dehydrotriferulic acids as standard substances from maize bran. **Journal of Separation Science**, v. 27, p. 1080–1086, 2004.
- CARDOSO, M. R. C.; PUERARI, H. H.; HERNANDES, I.; BRITO, O. D. C.; FERREIRA, J. C. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Acibenzolar-S-metil doses and application methods to *Pratylenchus brachyurus* control in maize. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B, Soil & Plant Science**, v. 67, p. 1-5, 2016. DOI: 10.1080/09064710.2016.1215514
- CHINNASRI B.; SIPES, B. S.; SCHMITT, D. P. Effects of acibenzolar-S-methyl application to *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 35, p. 110–114, 2003.
- CHRISTENSEN, J. H.; BAUCHER, M.; O'CONNELL, A. P.; VAN-MONTAGU, M.; BOERJAN, W. Control of lignin biosynthesis. In: JAIN, S. M.; MINOCHA, S. C. (Eds.) **Molecular Biology of Woody Plants**, p. 227–67 (Forestry Sciences, v. 64). Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, v. 1, 520 p, 2000.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. **State Agriculture Research Center: GHENT**, Belgium. 1972.
- DAS, S. C.; BALAMOCHAN, T. N.; POORNIMA, K.; SEENIVASAN, N.; BERGH, V. D.; De WAELE, D. Reaction of *Musa* hybrids to the burrowing nematode, *Radopholus similis*. **Indian Journal of Nematology**, v. 40, n. 2, p. 189-197, 2010.
- De SOUZA, I. R. P.; De OLIVEIRA, E.; PERES, M. A.; De OLIVEIRA, A. C.; PURCINO, A. Á. C. Peroxidase activity in maize inbred lines resistant or susceptible to maize dwarf mosaic virus. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 2, n. 1, p. 1-8, 2003.
- DEVI, A. N.; PONNUSWAMI, V.; SUNDARARAJU, P.; SOORIANATHASUNDARAM, K.; SATHIAMOORTHY, S.; UMA, S.; VAN DEN BERGH, I. Mechanism of resistance in banana cultivars against root lesion nematode, *Pratylenchus coffeae*. **Indian Journal of Nematology**, v. 37, p. 138–144, 2007.
- DIAS-ARIEIRA, C. R.; MARINI, P. M.; FONTANA, L. F.; ROLDI, M.; SILVA, T. R. B. Effect of *Azospirillum brasilense*, Stimulate® and potassium phosphite to control *Pratylenchus brachyurus* in soybean and maize. **Nematropica**, v. 42, n. 1, p.170-175, 2012.

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

DURRANT, W. E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 42, p. 185–209, 2004. DOI: 10.1146/annurev.phyto.42.040803.140421

EBEL, J.; COSIO, E. G. Elicitors of plant defense responses. **International Review of Cytology**, v. 148, p. 1–31, 1994.

ESQUERRE-TUGAYE, M. T.; LAMPORT, D. T. A. Cell surfaces in plant microorganism interactions. I. A structural investigation of cell wall hydroxyproline-rich glycoproteins which accumulate in fungus infected plants. **Plant Physiology**, v. 64, p. 314–319, 1979.

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

FRY, S. C.; WILLIS, S. C.; PATERSON, A. E. J. Intraprotoplasmic and wall-localised formation of arabinoxylan-bound diferulates and larger ferulate coupling-products in maize cell-suspension cultures. **Planta**, v. 211, n. 5, p. 679–692, 2000.

FRY, S. C. Oxidative coupling of tyrosine and ferulic acid residues: Intra- and extra-protoplasmic occurrence, predominance of trimers and larger products, and possible role in inter-polymeric crosslinking. **Phytochemistry Reviews**, v. 3, p. 97–111, 2004.

GOMEZ-VASQUEZ, R.; DAY, R.; BUSCHMANN, H.; RANGLES, S.; BEECHING, J. R.; COOPER, R. M. Phenylpropanoids, phenylalanine ammonia lyase and peroxidases in elicitor-challenged cassava (*Manihot esculenta*) suspension cells and leaves. **Annals of Botany**, v. 94, p. 87-97, 2004. <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mch107>

GRABBER, J. H.; HATÜELD, R. D.; RALPH, J. Diferulate cross-links impede the enzymatic degradation of non-lignified maize walls. **Journal of the Science of Food Agriculture**, v.77, p. 193-200, 1998.

HAEGEMAN, A.; JOSEPH, S.; GHEYSEN, G. Analysis of the transcriptome of the root lesion nematode *Pratylenchus coffeae* generated by 454 sequencing technology. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 178, p. 7–14, 2011.

HERNANDES, I.; BRITO, O. D. C.; CARDOSO, M. R.; FERREIRA, J. C. A.; PUERARI, H. H.; Dias-Arieira, C. R. Acibenzolar-S-methyl on *Meloidogyne javanica* control in lettuce, **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science**, 2017, v. 67. DOI: 10.1080/09064710.2017.1329453

HIRAGA, S.; SASAKI, K.; ITO, H.; OHASHI, Y.; MATSUI, H. A Large Family of Class III Plant Peroxidases. **Plant Cell Physiology**. v. 42, n. 5, p. 462–468, 2001.

- HOLBEIN, J.; GRUNDLER, F. M. W.; SIDDIQUE, S. Plant basal resistance to nematodes: an update. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 7, p. 2049–2061, 2016. DOI:10.1093/jxb/erw005
- HOMIAK, J. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; COUTO, E. A. A.; KATH, J.; ABE, V. H. F. Seed treatments associated with resistance inducers for management of *Pratylenchus brachyurus* in soybean. **Phytoparasitica**, v. 45, p. 243-250, 2017. DOI: 10.1007/s12600-017-1575-0
- HOWLES, P. A.; SEWALT, V. J. H.; PAIVA, N. L.; ELKIND, Y.; BATE, N. J.; LAMB, C.; DIXON, R. A. Overexpression of l-phenylalanine ammonia lyase in transgenic tobacco plants reveals control points for flux into phenylpropanoid biosynthesis. **Plant Physiology**, v. 112, p. 1617–1624, 1996.
- ITHAL, N.; RECKNOR, J.; NETTLETON, D.; HEARNE, L.; MAIER, T.; BAUM, T. J., MITCHUM, M. G. Parallel genome-wide expression profiling of host and pathogen during soybean cyst nematode infection of soybean. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v. 20, p. 293-305, 2007.
- JH, H.; KYNDT, T.; HE, W.; VANHOLME, B.; GHEYSEN, G. β -Aminobutyric acid-induced resistance against root-knot nematodes in rice is based on increased basal defense. **Molecular Plant–Microbe Interactions**, v. 28, p. 519–533, 2015.
- JONES, M. G. K.; FOSU-NYARKO, J. Molecular biology of root lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) and their interaction with host plants. **Annals of Applied Biology**, v. 164, p. 163-181, 2014.
- KUMAR, A. R.; KUMAR, N.; POORNIMA, K.; SOORIANATHASUNDARAM, K. Screening of in-vitro derived mutants of banana against nematodes using bio-chemical parameters. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**, v. 2, p. 271–278, 2008.
- LAMPORT, D. A.; KIELISZEWSKI, M. J.; CHEN, Y.; CANNON, M. C. Plant role of the extensin superfamily in primary cell wall architecture. **Physiology**, v. 156, p. 11–19, 2011.
- LEITE, B.; PASCHOLATI, S. F. Reconhecimento e transdução de sinais moleculares em interações plantas- fungos patogênicos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 5, p. 235-280, 1997.
- LEVER, M. A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates. **Analytical Biochemistry**, v. 47, p. 273-279, 1972.
- LEVY, A.; ERLANGER, M.; ROSENTHAL M.; EPEL, B. L. A plasmodesmata-associated β -1,3-glucanase in Arabidopsis. **The Plant Journal**, v. 49, p. 669–682, 2007. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2006.02986.x

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

MARJAMAA, K.; KUKKOLA, E. M.; FAGERSTEDT, K. V. The role of xylem class III peroxidases in lignification. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 367-376 2009. <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/ern278>

MEDEIROS, H. A.; RESENDE, R. S.; FERREIRA, F. C.; FREITAS, L. G.; RODRIGUES, F. Á. Induction of resistance in tomato against *Meloidogyne javanica* by *Pochonia chlamydosporia*. **Nematoda**, v. 2, p. 1-7, 2015. <http://dx.doi.org/10.4322/nematoda.10015>

MEHER, H. C.; GAJBHIYE, V. T.; SINGH, G.; CHAWLA, G. Altered metabolomic profile of selected metabolites and improved; resistance of *Cicer arietinum* (L.) against *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood following seed soaking with salicylic acid, benzothiadiazole or nicotinic acid. **Acta Physiology Plant**, v. 37, n. 140, p. 1-12, 2015. DOI: 10.1007/s11738-015-1888-6

MELILLO, M. T.; LEONETTI, P.; VERONICO, P. Benzothiadiazole effect in the compatible tomato-*Meloidogyne incognita* interaction: changes in giant cell development and priming of two root anionic peroxidases. **Planta**, v. 240, p. 841–854, 2014. DOI; 10.1007/s00425-014-2138-7

MERKOUROPOULOS, G.; BARNETT; D. C.; SHIRSAT A. H. The Arabidopsis extensin gene is developmentally regulated, is induced by wounding, methyl jasmonate, abscisic and salicylic acid, and codes for a protein with unusual motifs. **Planta**, v. 208, p. 212–219, 1999.

MISHRA, B. B.; GAUTAM, S. Polyphenol oxidases: biochemical and molecular characterization, distribution, role and its control. **Enzyme Engineering**, v. 5, n. 141, p. 1-9, 2016. DOI:10.4172/2329-6674.1000141

MOLINARI, M.; BASER, N. Induction of resistance to root-knot nematodes by SAR elicitors in tomato. **Crop Protection**, v. 29, n. 11, p. 1354-1362, 2010. DOI: 10.1016/j.cropro.2010.07.012.

MORRIS, S. W.; VERNOOIJ, B.; TITATARN, S.; STARRETT, M.; THOMAS, S.; WILTSE, C. C.; FREDERIKSEN, R. A.; BHANDHUFALCK, A.; HULBERT, S.; UKNES, S. Induced Resistance Responses in Maize. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 11, n. 7, p. 643–658, 1998.

MOSTAFANEZHAD, H.; SAHEBANI, N.; ZARGHANI, S. N. Induction of resistance in tomato against root-knot nematode *Meloidogyne javanica* with salicylic acid. **Journal of Crop Protection**. v. 3, n. 4, p. 499-508, 2014.

NAHAR, K.; KYNDT, T.; VLEESSCHAUWER, D. De; HÖFTE, M.; GHEYSEN, G. The jasmonate pathway is a key player in systemically induced defense against root knot nematodes in rice. **Plant Physiology**, v 157, p. 305–316, 2011.

NICHOLSON, R. L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 30, p. 369-389, 1992.

NICOL, P.; GILL, R.; FOSU-NYARKO, J.; JONES, M. G. K. *de novo* analysis and functional classification of the transcriptome of the root lesion nematode, *Pratylenchus thornei*, after 454 GS FLX sequencing. **International Journal of Parasitology**, v. 42, p. 225–237, 2011.

NIEBEL, A.; de ALMEIDA ENGLER, J.; TIRÉ, C.; ENGLER, G. van MONTAGU, M. GHEYSEN, G. Introduction patterns of extensin gene in tobacco upon nematode infection. **Plant Cell**, v. 5, p. 1697-1710, 1993.

NIGGEWEG, R.; MICHAEL, A. J.; MARTIN, C. Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid. **Nature Biotechnology**, v. 22, p. 746–754, 2004.

NIKOO, F. S.; SAHEBANI, N.; AMINIAN, H.; MOKHTARNEJAD, L.; GHADERI, R. Induction of systemic resistance and defense-related enzymes in tomato plants using *Pseudomonas fluorescens* CHAO and salicylic acid against root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Journal of Plant Protection Research**, v. 54, n. 4, p. 383-389, 2014.

ÖNNERUD, H., ZHANG, L., GELLERSTEDT, G.; HENRIKSSON, G. Polymerization of monolignols by redox shuttle-mediated enzymatic oxidation: a new model in lignin biosynthesis. I. **Plant Cell**, v. 14, p. 1953–1962, 2002.

OOSTENDORP, M.; KUNZ, W.; DIETRISCH, B.; STAUB, T. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, p. 19-28, 2001.

OWEN, K. J.; GREEN, C. D.; DEVERALL, B. J. A benzothiadiazole applied to foliage reduces development and egg deposition by *Meloidogyne* spp. in glasshouse-grown grapevine roots. **Australasian Plant Pathology**, v. 31, p. 47–53, 2002.

PASSARDI, F.; LONGET, D.; PENEL, C.; DUNAND, C. The class III peroxidase multigenic family in rice and its evolution in land plants. **Phytochemistry**, v. 65, p. 1879–1893, 2004.

PASSARDI, F.; PENEL, C.; DUNAND, C. Performing the paradoxal: how plant peroxidases modify the cell wall. **Trends in Plant Science**, v. 9, p. 534-540, 2004.

PEDERSEN, M. B.; BUNZEL, M.; SCHÄFER, J.; KNUDSEN, K. E. B.; SØRENSEN, J. F.; YU, S.; LÆRKE, H. N. Ferulic acid dehydrodimer and dehydrotrimer profiles of distiller's Dried grains with solubles from different cereal species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 2006–2012, 2015. DOI: 10.1021/jf505150g

POKHARE, S.; PANKAJ, N. A.; SHAKIL, KUMAR, J.; SINGH, K. Foliar application of chemical elicitors induces biochemical changes in wheat against the cereal cyst nematode, *Heterodera avenae*. **Nematologia Mediterranea**, v. 40, p. 181-187, 2012.

- PUERARI, H. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; CARDOSO, M. R.; HERNANDES, I.; BRITO, O. D. C. Resistance inducers in the control of root lesion nematodes in resistant and susceptible cultivars of maize. **Phytoparasitica**, v. 43, p. 383-389, 2015. DOI: 10.1007/s12600-014-0447-9
- PUERARI, H. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; DADAZIO, T. S.; MATTEI, D.; SILVA, T. R. B.; RIBEIRO, R. C. F. Evaluation of acibenzolar-S-methyl for the control of *Meloidogyne javanica* and effects on the development of susceptible and resistant soybean. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 1, p. 44-48, 2013.
- RALPH, J.; BUNZEL, M.; MARITA, M. J.; HATFIELD, R. D.; LU, F.; KIM, H.; SCHATZ, P. F.; GRABBER, J. H.; STEINHART, H. Peroxidase-dependent cross-linking reactions of p-hydroxycinnamates in plant cell walls. **Phytochemistry Reviews**, v. 3, p. 79–96, 2004.
- SAHEBANI, N.; HADAVI, N. Induction of H₂O₂ and related enzymes in tomato roots infected with root knot nematode (*M. javanica*) by several chemical and microbial elicitors. **Biocontrol Science and Technology**, v. 19, p. 301–313, 2009.
- SAHEBANI, N.; HADAVI, N. S.; ZADE, F. O. The effects of b-amino-butyric acid on resistance of cucumber against root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*. **Acta Physiology Plant**, v. 33, p. 443–450, 2011. DOI: 10.1007/s11738-010-0564-0
- SALGADO, S. M. L.; RESENDE, M. L. V.; CAMPOS, V. P. Efeito de indutores de resistência sobre *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1007-1013, 2007. DOI: 10.1590/S1413-70542007000400010.
- SANKAR, C.; SOORIANATHASUNDARAM, K.; KUMAR, N.; KARUNAKARAN, G.; SIVAKUMAR, M. Induction of Resistant to *Radopholus similis* and Defence Related Mechanism in Susceptible and Resistance Banana Hybrids Infected with *Radopholus similis*. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6. n. 4, p. 1668-1684, 2017.
- SANTOS, M. C. V.; CURTIS, R. H. C.; ABRANTES, I. Effect of plant elicitors on the reproduction of the root-knot nematode *Meloidogyne chitwoodi* on susceptible hosts. **Europe Journal Plant Pathology**, v. 136, p. 193–202, 2013. DOI: 10.1007/s10658-012-0155-6
- SELA-BUURLAGE, M. B.; PONSTEIN, A. S.; BRES-VLOEMANS, S. A.; MELCHERS, L. S.; VAN DEN ELZEN, P. J. M.; CORNELISSEN, B. J. C. Only specific tobacco (*Nicotiana tabacum*) chitinases and β -1,3-glucanases exhibit antifungal activity. **Plant Physiology**, v. 101, p. 857–863, 1993.
- STARR, J. L.; YANG, W.; YAN, Y.; CRUTCHER, F.; KOLOMIETS, M. Expression of Phenylalanine Ammonia Lyase Genes in Maize Lines Differing in Susceptibility to *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, v. 46, n. 4, p. 360–364, 2014.

SUNDARARAJ, P.; KATHIRESAN, T. Induction of β -1,3-glucanase and chitinase activities in resistant and susceptible sugarcane clones inoculated with *Pratylenchus zae*. **International Journal of Nematology**, v. 22, n. 1, p. 1-10, 2012.

SZAKASITS, D.; HEINEN, P.; WIECZOREK, K., HOFMANN, J.; WAGNER, F.; KREIL, D. P.; SYKACEK, P.; GRUNDLER, F. M. W.; BOHLMANN, H. Transcriptome of syncytia induced by the cyst nematode *Heterodera schachtii* in *A. thaliana* roots. **Plant Journal**, v. 57, p. 771-784, 2009.

TARANTO, F.; PASQUALONE, A.; MANGINI, G.; TRIPODI, P.; MIAZZI, M. M.; PAVAN, S.; MONTEMURRO, C. Polyphenol oxidases in crops: biochemical, physiological and genetic aspects. **International Journal of Molecular Science**, v. 18, n. 377, p. 1-16, 2017. Doi:10.3390/ijms18020377

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

VAGANAN, M. M.; RAVI, I.; NANDAKUMAR, A.; SARUMATHI, S.; SUNDARARAJU, P.; MUSTAFFA, M. M. Phenylpropanoid enzymes, phenolic polymers and metabolites as chemical defenses to infection of *Pratylenchus coffeae* in roots of resistant and susceptible bananas (*Musa* spp.). **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 52, p. 252-260, 2014.

VASYUKOVA, N. I.; PRIDVOROVA, S. M.; GERASIMOVA, N. G.; CHALENKO, G. I.; OZERETSKOVSKAYA, O. L.; UDALOVA, ZH. V.; ZINOV'EVA, S. V. The involvement of phenylalanine ammonia-lyase and salicylic acid in the induction of resistance of tomato plants infested with gall nematode *Meloidogyne incognita*. **Doklady Biological Sciences**, v. 416, p. 382–385, 2007. DOI: 10.1134/S0012496607050171

VOGELSANG, R.; BARZ, W. Purification, characterization and differential hormonal regulation of a β -1,3-glucanase and chitinases from chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Planta**, v.189, p. 60-69, 1993.

WAR, A. R.; PAULRAJ, M. G.; AHMAD, T.; BUHROO, A. A.; HUSSAIN, B.; IGNACIMUTHU, S.; SHARMA, H. C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 10, p. 1306-1320, 2012. <http://dx.doi.org/10.4161/psb.21663>

WUYTS, N.; De WAELE, D.; SWENNEN, R. Effects of plant phenylpropanoid pathway products and selected terpenoids and alkaloids on the behaviour of the plant-parasitic nematodes *Radopholus similis*, *Pratylenchus penetrans* and *Meloidogyne incognita*. **Nematology**, v. 8, n. 1, p. 89-101. 2006. DOI: 10.1163/156854106776179953

WUYTS, N.; LOGNAY, G.; VERSCHEURE, M.; MARLIER, M.; DE WAELE, D.; SWENNEN, R. Potential physical and chemical barriers to infection by the burrowing nematode *Radopholus similis* in roots of susceptible and resistant banana (*Musa* spp.). **Plant Pathology**, v. 56, p. 878–890, 2007. Doi: 10.1111/j.1365-3059.2007.01607.x

YOSHIKAWA, M.; YAMAOKA, N.; TAKEUCHI, Y. Elicitors: their significance and primary modes of action in the induction of plant defense reactions. **Plant and Cell Physiology**, v. 34, p. 1163–1173, 1993.

ZHAO, A. Q.; NAKASHIMA, J.; CHEN, F.; YIN, Y.; FU, C.; YUN, J.; SHAO, H.; WANG, X.; WANG Z.; DIXONA, R. A. Laccase is necessary and nonredundant with peroxidase for lignin polymerization during vascular development in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 25, p. 3976–3987, 2013.

ZHAO, Z.; MOGHADASIAN, M. H. Bioavailability of hydroxycinnamates: a brief review of in vivo and in vitro studies. **Phytochemistry Reviews**, v. 9, p. 133–145, 2010. DOI 10.1007/s11101-009-9145-5

ŽIVKOVIĆ, S.; POPOVIĆ, M.; DRAGIŠIĆ-MAKSIMOVIĆ, J.; MOMČILOVIĆ, I.; GRUBIŠIĆ, D. Dehydration-related changes of peroxidase and polyphenol oxidase activity in fronds of the resurrection fern *Asplenium ceterach* L. **Archives Biological Sciences**, Belgrade, v. 62, n. 4, p. 1071-1081, 2010. DOI:10.2298/ABS1004071Z

Capítulo 3

Penetração e desenvolvimento de *Pratylenchus brachyurus* em raízes de milho pulverizado com acibenzolar-S-metil

Penetração e desenvolvimento de *Pratylenchus brachyurus* em raízes de milho pulverizado com acibenzolar-S-metil

RESUMO

Atualmente, novas formas de controle têm sido estudadas no manejo de nematoides, sendo a indução de resistência um método promissor no controle de nematoides endomigradores sedentários. Entretanto, pouco sabe-se a respeito deste método frente a nematoides migradores. Assim, objetivou-se avaliar a aplicação de acibenzolar-S-metil (ASM) na penetração, desenvolvimento e multiplicação de *P. brachyurus* em milho. Para isso, plântulas de milho cv. Al. Bandeirantes, aos dez dias após germinação, foram inoculadas com 800 espécimes do nematoide e parte das plantas, foram tratadas com ASM pulverizado na dose 0,5 g i.a L⁻¹, enquanto outra parte foram inoculadas, porém, não tratadas. A cada cinco (experimento 1) e dois (experimento 2) dias após tratamento (DAT), as plantas foram retiradas, as raízes lavadas e submetidas ao processo de coloração com fucsina ácida. Os espécimes foram quantificados e o comprimento mensurado com o auxílio de ocular milimetrada, acoplada ao microscópio óptico, sendo os espécimes classificados em três grupos: 0,10 a 0,29; 0,30 a 0,49 e 0,50 a 0,69 mm. Aos 30 e 60 dias, realizou-se a avaliação do parâmetro nematológico. O ASM reduziu a população final do nematoide nas raízes do milho aos 30 e 60 DAT e o número de espécimes e ovos no sistema radicular das plantas aos 8 e 10 DAT, porém sem interferir na penetração do nematoide. Com relação ao desenvolvimento do nematoide, pode-se observar aumento na proporção de espécimes em estágio inicial (0,10 a 0,29 mm) e menor proporção de espécimes apresentando entre 0,50 a 0,65 mm de comprimento em plantas tratadas com ASM em comparação ao controle. Logo, o produto estudado é capaz de afetar o desenvolvimento e a reprodução do nematoide.

Palavras-chave: Controle alternativo. Indução de resistência. Nematoides das lesões radiculares. *Zea mays*.

Penetration and development of *Pratylenchus brachyurus* in maize roots
treated with acibenzolar-S-metil

ABSTRACT

Currently, new methods of control have been studied in the nematodes management. Resistance induction is a promising method to the control of sedentary endoparasitic nematodes, but there is a lack of information about this method against migratory nematodes control. The objective of this study was to evaluate the application of acibenzolar-S-methyl (ASM) in the penetration, development and multiplication of *P. brachyurus* in maize. For this, maize seedling cv. Al. Bandeirantes with ten days of germination was inoculated with 800 nematode specimens and part of the plants were treated with ASM sprayed at the dose 0.5 g a.i. L⁻¹, while another part were inoculated but not treated. Each five (experiment 1) and two (experiment 2) days after treatment (DAT), the plants were removed, the roots washed and submitted to the staining process with acid fuchsin. The specimens were quantified and the length measured with the aid of ocular millimeter coupled to the optical microscope, in which the specimens were classified in three groups: 0.10 to 0.29, 0.30 to 0.49 and 0.50 to 0.69 mm. At 30 and 60 DAT, the evaluation of the nematological parameter was carried out. ASM reduced the final nematode population in maize roots at 30 and 60 DAT, number of specimens and eggs in the plant root system at 8 and 10 DAT. In relation to the nematode development, it is possible to observe an increase in the proportion of specimens at an early stage (0.10 to 0.29 mm) and a lower proportion of specimens presenting between 0.50 and 0.65 mm of length in plants treated with ASM compared to control. Therefore, the product studied is capable of affecting the development and reproduction of the nematode.

Keywords: Alternate control. Resistance induction. Root lesions nematodes. *Zea mays*.

INTRODUÇÃO

A resistência a nematoides frequentemente ocorre devido à capacidade da célula em dificultar a movimentação e alimentação, ou mesmo, por comprometer a reprodução do parasita pela produção de determinadas substâncias, geralmente associadas ao metabolismo secundário da planta (SEENIVASA et al., 2011). Majoritariamente, este processo é observado como resposta de reação de hipersensibilidade, que envolve alterações na atividade enzimática, metabolismo fenólico, deposição de compostos recém sintetizados na parede celular e regulação do radical livre O_2 de plantas resistentes (ZACHEO et al., 1995; DAS et al., 2008; FULLER; LILLEY; URWIN, 2008).

Semelhante processo tem sido observado na indução de resistência pela aplicação de acibenzolar-S-metil (ASM), o qual não afeta a eclosão, sobrevivência ou penetração de nematoides nas raízes dos hospedeiros (OWEN; GREEN; DEVERALL, 2002; SALGADO; RESENDE; CAMPOS, 2007), mas reduz o desenvolvimento e a reprodução do mesmo, sendo frequentemente observado maior número de fêmeas imaturas ou menor número de massa de ovos e ovos, quando comparado às plantas não tratadas com o produto (CHINNASRI; SIPES; SCHMITT, 2003; MOLINARI; BASER, 2010; VIEIRA dos SANTOS; CURTIS; ABRANTES, 2013).

ASM é um dos principais eliciadores sintéticos utilizados no estudo da indução de resistência no controle de nematoides em plantas, sendo, atualmente, encontrados estudos contra ampla gama de fitonematoídes em distintas culturas (HOFFMANN et al., 2005; PUERARI et al., 2013; PUERARI et al., 2015; HERNANDES et al., 2017). Os eliciadores, ao entrarem em contato com os tecidos da planta, desencadeiam a síntese de substâncias que agem como sinais bioquímicos, estabelecendo-se por toda a planta e promovendo a expressão de genes específicos, que até o momento se mantinham inativos, proporcionando a produção de proteínas determinantes de resistência em plantas (LEITE; PASCHOLATI, 1997; DURRANT; DONG, 2004; ROMEIRO; GARCIA, 2009).

Ao ser avaliado o efeito do ASM no controle de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood e *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood em videira, foi constatado reduções de 40 a 80% no número de galhas e ovos, respectivamente, como também, aumento significativo na atividade da enzima β -1,3-glucanases em raízes de plantas tratadas em relação à testemunha (OWEN; GREEN; DEVERALL, 2002). Já no patossistema *Meloidogyne incognita* (Kofoid; White) Chitwood -

tomateiro, constatou-se maior produção de peróxido de hidrogênio e transcriptomas relacionados à enzima peroxidase e redução no número de massa de ovos g^{-1} raiz (MELILLO; LEONETTI; VERONICO, 2014). Além disso, através de análises histológicas, verificou-se aumento na lignificação e redução no diâmetro das células nutridoras, aumento na densidade e contração do citoplasma das células vizinhas a estes sítios, sendo estas características apontadas como responsáveis por influenciar negativamente o desenvolvimento dos sítios de alimentação, reduzindo a sua capacidade em nutrir o patógeno.

Diferentemente, nematoides endoparasitas migratórios, como *Pratylenchus* spp., não formam sítios de alimentação, entretanto, a aplicação de ASM tem proporcionado reduções na reprodução de *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev; Schuurmans Stekhoven em soja e milho (CASTILLO; VOVLAS, 2007; PUERARI et al., 2015; CARDOSO et al., 2016; HOMIAK et al., 2017). Analisando estudos com cultivares de banana resistentes a *Pratylenchus coffeae* Goodey e *Radopholus similis* Cobb, observou-se aumento na atividade das enzimas peroxidases, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase, aumento de lignificação e produção de fitoalexinas nas células do córtex, quando comparadas às cultivares suscetíveis, as quais podem reduzir a mobilidade e a alimentação do nematoide (SUNDARARAJU; SUBA, 2006; DEVI et al., 2007; WUYTS et al., 2007; KUMAR et al., 2008).

Apesar da eficiência de controle proporcionada pelo ASM, pouco se sabe como este produto atua no controle de nematoides migradores. Assim, o presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito da aplicação de ASM, em parte aérea, sob a penetração, desenvolvimento e multiplicação de *P. brachyurus* em raízes de milho.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi constituído de dois experimentos, aos quais foram realizados em casa-de-vegetação, nas coordenadas geográficas 23°47'34,5'' S e 53°15'22,1'' W, nos períodos de 15/02 a 20/04/2016 (experimento 1) e 05/10 a 13/11/2016 (experimento 2). Cada experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado e esquema fatorial 2 x 3 (tratamento x época), no experimento 1, e 2 x 6 no experimento 2, composto pelos tratamentos, plantas inoculadas com *P. brachyurus* e tratadas com ASM e plantas inoculadas e não tratadas (controle),

e três épocas (experimento 1) ou 6 épocas de avaliação (experimento 2), com cinco repetições para cada tratamento.

Inicialmente, duas sementes de milho cv. AL. Bandeirantes foram semeadas em cada vaso, contendo 700 mL de substrato composto por uma mistura de solo e areia 2:1 (v:v), previamente autoclavado (120 °C 2 h⁻¹). Após a germinação, realizou-se o desbaste, mantendo-se uma plântula por vaso. Dez dias após a germinação, cada plântula de milho foi inoculada com 4 mL de solução, contendo 800 espécimes de *P. brachyurus*. O inóculo foi obtido de população pura do nematoide, mantida em soja sob condições de casa de vegetação. Para obtenção do inóculo, o sistema radicular das plantas foi retirado, cuidadosamente lavado e submetido ao método de extração proposto por Coolen; D'Herde (1972). A suspensão foi calibrada para 200 espécimes mL⁻¹, utilizando câmara de Peters sob microscópio óptico, sendo, posteriormente, aplicada em quatro orifícios (1 mL orifício⁻¹) de 3 cm de profundidade, abertos no solo ao redor de cada plântula, os quais, foram fechados após inoculação.

A aplicação do ASM foi realizada no mesmo dia da inoculação, quando as plântulas estavam em estágio V1 (uma folha totalmente expandida), pulverizando-se a parte aérea das mesmas com 0,5 g L⁻¹ de produto comercial Bion 500[®] (Syngenta), até o ponto de escorrimento superficial. Plantas não tratadas foram pulverizadas com água (controle). As avaliações foram realizadas em épocas distintas para cada experimento. No experimento 1, as avaliações foram realizadas aos 5, 10 e 15 dias após tratamento (DAT), enquanto no experimento 2, foram realizadas em seis épocas diferentes, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 DAT. Para isso, cinco plantas de cada tratamento foram retiradas e o sistema radicular lavado para a retirada do solo. O sistema radicular foi pesado e submetido ao método de coloração proposto Byrd; Kirpatrick; Barker (1983), sendo armazenado em frascos tipo coletor universal (50 mL), devidamente identificados e fechados, imersos em solução de glicerina e água destilada (v:v; 1:1) e mantidos em geladeira até o momento da análise.

Posteriormente, as raízes foram distribuídas em tampas de placas de Petri plásticas (140 x 15 mm) invertidas e sobreposta pela base da placa, também invertida, permitindo a vedação da amostra. As placas foram identificadas e analisadas em microscópio de luz, quantificando-se o número de espécimes (juvenis e adultos) e ovos presentes nas amostras. Para a análise do desenvolvimento do nematoide, em cada repetição, foi mensurado o comprimento dos nematoides expandidos, sendo que o número de nematoides variou de 6 a 20 espécimes por repetição, em

função do tratamento e época de análise. Para cada repetição, adotou-se o número máximo de 20 espécimes aleatórios por sistema radicular. Os espécimes foram mensurados utilizando-se ocular constituída de régua milimetrada, devidamente calibrada, acoplada ao microscópio de luz. Estes foram distribuídos em três classe com diferentes comprimentos, 0,10 a 0,29 mm, 0,30 a 0,49 mm e 0,50 a 0,69 mm, de modo que os valores obtidos de cada repetição foram transformados em porcentagem (%), considerando o número total de nematoides mensurados (100%) obtidos em cada amostra (6 a 20 espécimes), para posterior análise estatística.

Cinco plantas de cada tratamento foram mantidas até os 30 e 60 dias após a inoculação (experimento 1) e 30 dias após inoculação (experimento 2), para avaliação da população final do nematoide. Para isso, as raízes foram lavadas, colocadas em papel absorvente para retirar o excesso de água e pesadas. Então, foram submetidas ao processo de extração conforme metodologia citada anteriormente, sendo posteriormente quantificados em câmara de Peters e microscópio de luz, quanto a número de espécimes por grama de raiz.

Para atender os pressupostos de normalidade, os dados obtidos foram transformados em \sqrt{x} , para o parâmetro de população final, e $\sqrt{x + 1}$, para os demais parâmetros, e submetidos a análise de variância (ANOVA). Quando significativo, as médias dos parâmetros número de espécimes, de ovos e população total, foram comparadas pelo teste t (LSD) a 5% de probabilidade para o fator tratamento e pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para o fator época. Para o parâmetro população final (nematoide g⁻¹ de raiz) e análise do desenvolvimento dos espécimes, as médias das quantidades e porcentagens, respectivamente, foram comparadas pelo teste t (LSD) 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS

Houve interação significativa para o número de espécimes no experimento 1, nas avaliações realizadas aos 5, 10 e 15 DAT (Tabela 3.1). Apesar de não haver diferença aos 5 DAT, foi verificado menor número de espécimes aos 10 e 15 DAT nas plantas que receberam a aplicação do ASM em comparação ao controle. Também foi constatado aumento no número de espécimes nas raízes das plantas controle nas avaliações realizadas aos 10 e 15 DAT, enquanto nas plantas tratadas com ASM, não houve aumento significativo ao longo das épocas analisadas.

Em relação ao número de ovos, não foi constatado interação entre os fatores estudados, entretanto, foi observada significância para os fatores isoladamente, apresentando menor média total no número de ovos para o tratamento com aplicação de ASM, em comparação ao tratamento controle. Para o fator época, maior média total foi verificada aos 15 DAT (Tabela 3.1).

Resultados semelhantes foram obtidos para a população total (soma do número de espécimes e ovos), sendo constatado menor número de espécimes no tratamento com ASM, aos 10 e 15 DAT, em comparação ao tratamento controle (Tabela 3.1). Analisando o fator época dentro de cada tratamento, foi possível observar o aumento significativo da população total ao longo das épocas nas plantas controles, enquanto para as plantas tratadas com ASM o aumento na população final foi verificado aos 15 DAT.

Tabela 3.1 Número de espécimes (juvenis e adultos), de ovos e população total (espécimes + ovos) de *P. brachyurus* inoculado em plântulas de milho aos 5, 10 e 15 dias após tratamento com ASM. Experimento 1.

Tratamentos	Época (Dias após tratamento)			Média total
	5	10	15	
Espécimes				
ASM	16 aA	14 bA	16 bA	15
Controle	14 aB	29 aA	46 aA	30
Média total	15	21	31	CV (%) 14,6
Ovos				
ASM	0 ns	1 ns	14 ns	5 b
Controle	0 ns	5 ns	19 ns	8 a
Média total	0 B	3 B	17 A	CV (%) 36,7
População total				
ASM	16 aB	14 bB	30 bA	20
Controle	14 aC	34 aB	65 aA	38
Média total	15	24	48	CV (%) 16,2

Médias seguidas de mesma letra minúsculas em coluna e maiúsculas em linha não diferem estatisticamente entre si; CV=coeficiente de variação (%).

Nas seis avaliações de penetração e desenvolvimento do experimento 2, foi observada interação entre os fatores tratamento e época para as variáveis número de espécimes, de ovos e população total (Tabela 3.2). Plantas tratadas com ASM apresentaram redução no número de espécimes, em comparação às plantas controles, a partir do 8º DAT, mantendo valores significativamente superiores nas épocas subsequentes (10 e 12 DAT). Já para o fator época, houve aumento no número de espécimes entre os 2º e 4º DAT, porém nas demais épocas manteve-se

constante. Diferentemente, para o controle verificou-se aumento constante neste parâmetro ao longo dos períodos avaliados, apresentando maiores números aos 10 e 12 DAT.

Da mesma forma, o número de ovos e a população total apresentaram menores médias a partir do 10º e 8º DAT, respectivamente, em comparação ao controle (Tabela 3.2). Analisando o fator época dentro de cada tratamento, também foi verificado aumento nos parâmetros avaliados no decorrer do período analisado para o tratamento controle, enquanto nas plantas tratadas com ASM foi constatado aumento no número de ovos apenas entre o 4º e 6º DAT, e para população total entre o 2º e 4º DAT, mantendo-se estável posteriormente.

Tabela 3.2 Número de espécimes (juvenis e adultos), de ovos e população total (espécimes + ovos) de *P. brachyurus* inoculado em plântulas de milho aos 5, 10 e 15 dias após tratamento com ASM. Experimento 2.

Tratamentos	Épocas (Dias após tratamento)						Média total
	2	4	6	8	10	12	
Espécimes							
ASM	26 aB	74 aA	74 aA	53 bAB	67 bA	70 bA	60
Controle	20 aD	65 aC	101 aBC	91 aBC	143 aA	116 aAB	89
Média total	23	69	87	72	93	105	CV = 14,6
Ovos							
ASM	0 aB	0 aB	8 aA	11 aA	13bA	14 bA	8
Controle	0 aD	0 aD	10 aC	12 aC	30 aB	53 aA	17
Média total	0	0	9	12	21	33	CV = 25,8
População total							
ASM	26 aB	74 aA	82 aA	66 bA	80 bA	85 bA	68
Controle	20 aC	65 aB	112 aB	102 aB	174 aA	169 aA	107
Média total	23	69	96	84	126	127	CV = 14,4

Médias seguidas de mesma letra minúsculas em coluna e maiúsculas em linha não diferem estatisticamente entre si; CV=coeficiente de variação (%).

Quanto ao desenvolvimento morfológico dos nematoides, no experimento 1, pode-se observar maior porcentagem de espécimes com comprimentos entre 0,10 e 0,29 mm aos 10 e 15 DAT em plantas tratadas com ASM se comparadas à testemunha (Figura 1.1). Para os espécimes que apresentavam comprimentos entre 0,30 a 0,49 mm não foi observado diferença estatísticas nas porcentagens analisadas para ambos tratamentos ao longo das épocas. Porém, menor porcentagem de espécimes medindo entre 0,50 e 0,69 mm foi verificada aos 10 e 15 DAT nas plantas tratadas com ASM.

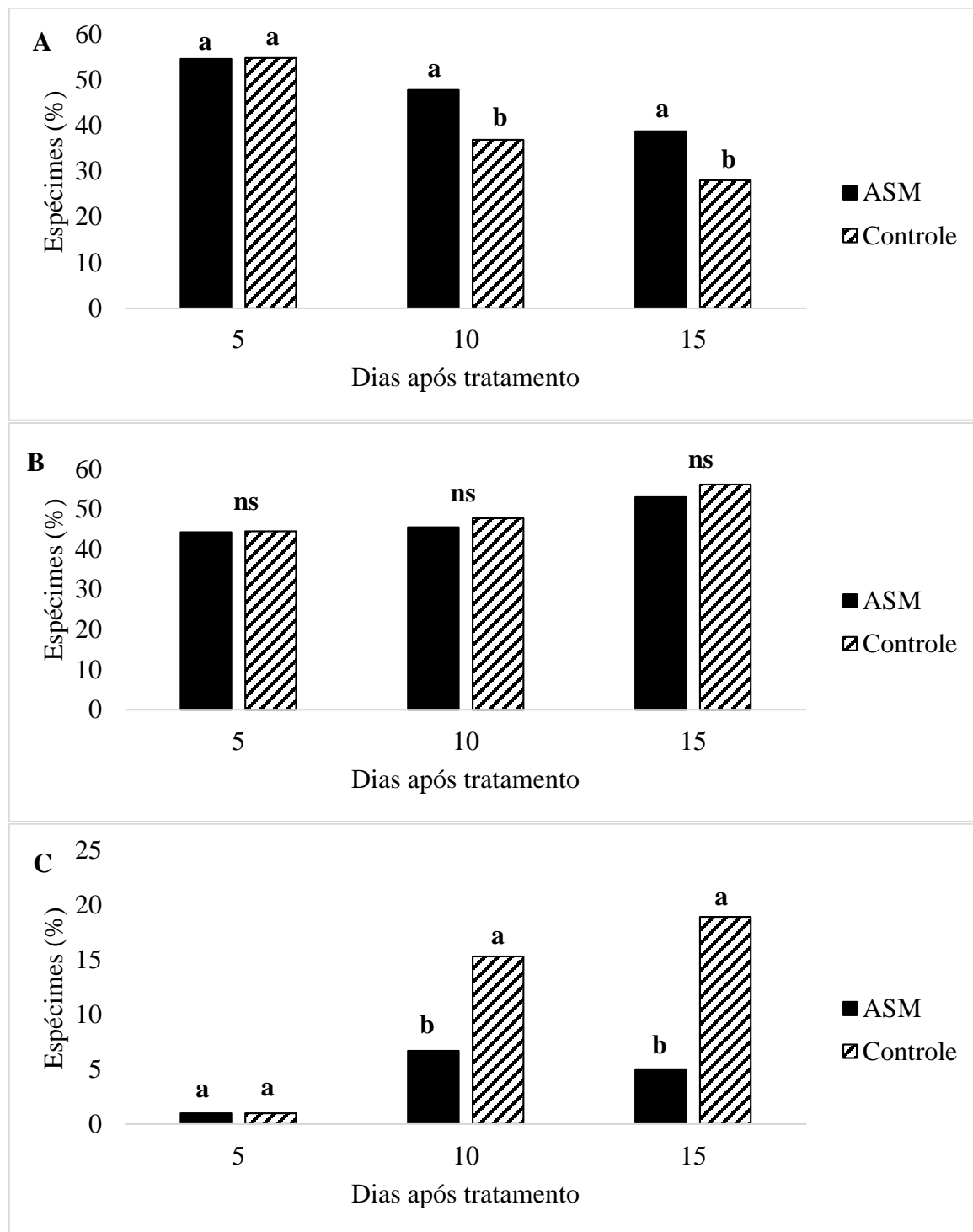


Figura 1.1 Porcentagem de espécimes apresentando comprimento de 0,10-0,29 mm (A), 0,30-0,49 mm (B) e 0,50-0,69 mm (C) mensurados em raízes de milho aos 5, 10 e 15 dias após os tratamentos, com e sem aplicação de ASM no experimento 1. Barras de mesma letra não diferem entre si pelo teste T a 5 % de probabilidade; ns=não significativo.

Os resultados do experimento 2 corroboraram o primeiro, visto que para espécimes com comprimentos entre 0,10 e 0,29 mm, maiores porcentagens foram verificadas a partir do 6º DAT em plantas tratadas com ASM em relação ao controle, permanecendo estes valores significativamente superiores nas demais épocas analisadas (Figura 1.2).

Não foi observado diferença estatística na porcentagem de espécimes mensurados de 0,30 a 0,49 mm, entre os tratamentos analisados. Já para os espécimes com comprimento entre 0,50 e 0,69 mm, menores porcentagens foram observadas nas plantas tratadas com ASM a partir do 8º DAT, em comparação ao controle, diferença esta também constatada aos 10 e 12 DAT (Figura 2).

Reduções nas populações totais de ambos experimentos (Tabela 3.1 e 3.2) também foram observadas na população final de nematoides (número de nematoides g^{-1} raiz) realizadas aos 30 e 60 dias, no experimento 1, e aos 30 dias após tratamentos, no experimento 2 (Tabela 3.3). No experimento 1, verificou-se reduções de 70,8 e 59,1% na população final de nematoide nas plantas pulverizadas com ASM aos 30 e 60 dias após tratamento, respectivamente. De forma semelhante, no experimento 2, observou-se redução de 65,4% na população final do nematoide em raízes de plantas pulverizadas com ASM em relação ao controle.

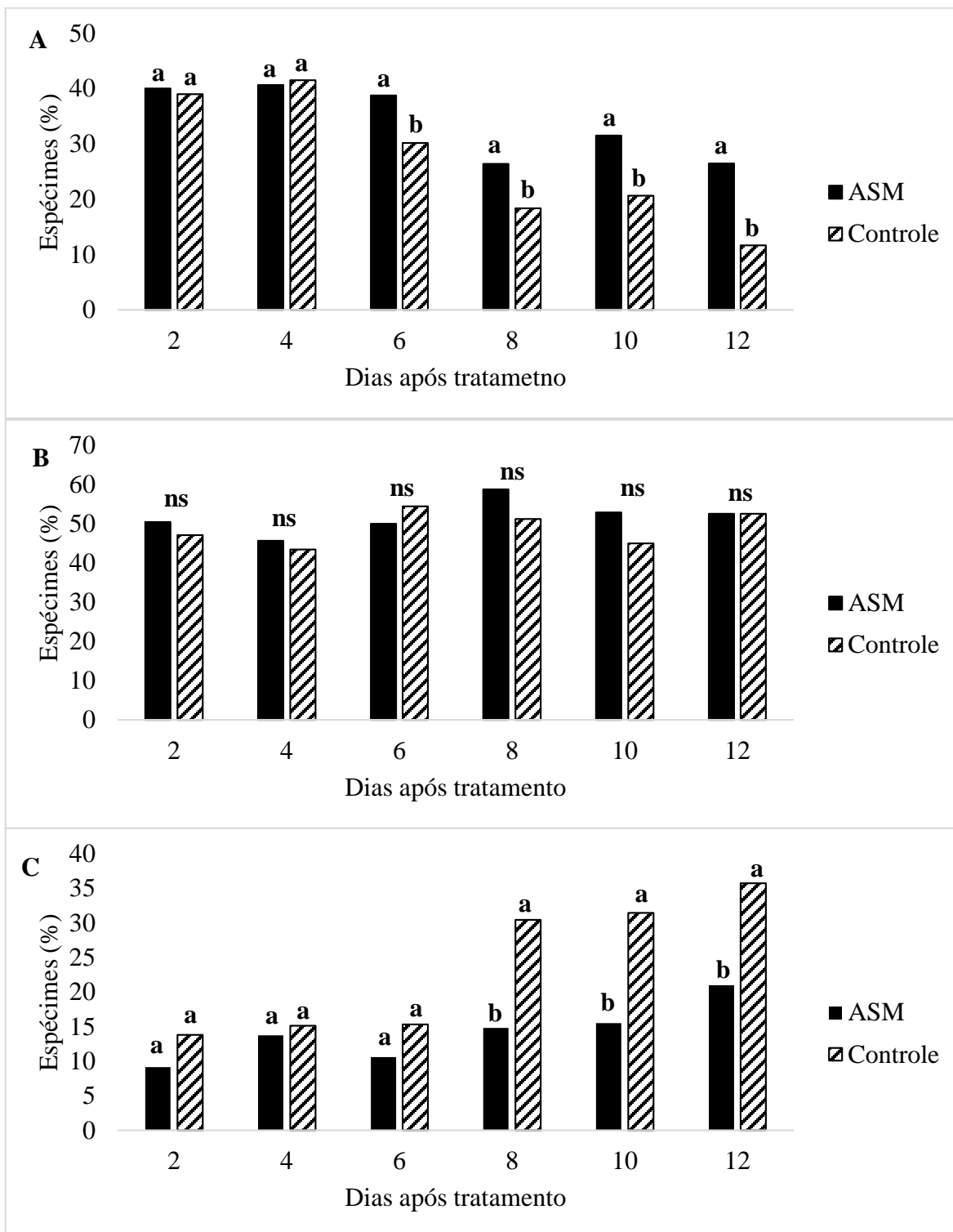


Figura 1.2 Porcentagem de espécimes apresentando comprimento de 0,10-0,29 mm (A), 0,30-0,49 mm (B) e 0,50-0,69 mm (C) mensurados em raízes de milho aos 2, 4, 6, 8, 10 e 12 dias após os tratamentos, com e sem aplicação de ASM no experimento 2. Barras de mesma letra não diferem entre si pelo teste T a 5 % de probabilidade; ns=não significativo.

Tabela 3.3 Número de *Pratylenchus brachyurus* por grama de raiz (população final) e porcentagem de redução em comparação à testemunha em milho avaliado aos 30 e 60 dias (experimento 1) e aos 30 dias após tratamentos (experimento 2) com acibenzolar-S-metil

Tratamento	Número de nematoides g ⁻¹ raiz	Porcentagem de redução
Experimento 1 - 30 dias após tratamento		
ASM	306 b	70,8
Controle	594 a	-
CV (%)	11,26	
Experimento 1 – 60 dias após tratamento		
ASM	901 b	59,1
Controle	2450 a	-
CV (%)	23,82	
Experimento 2 - 30 dias após tratamento		
ASM	310 b	65,4
Controle	676 a	-
CV (%)	11,48	

Dentro de cada época de avaliação, médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste t a 5% de probabilidade; CV= coeficiente de variação;

DISCUSSÃO

Foi possível constatar que não houve redução na penetração do nematoide nas primeiras avaliações de ambos os experimentos. Entretanto, aos 10 DAT (experimento 1) e aos 8 DAT (experimento 2) observou-se menor proporção de espécimes em raízes de plantas tratadas com ASM em comparação ao controle, mantendo-se inferior nas demais épocas de avaliação. De fato, o ASM tem sido citado como um produto que não afeta a penetração do nematoide (OWEN; GREEN; DEVERALL, 2002; CHINNASRI; SIPES; SCHMITT, 2003), por agir em processos pós infeccionais (MOLINARI; BASER, 2010; MELILLO; LEONETTI; VERONICO, 2014).

Apesar dos trabalhos citados acima mostrarem que a aplicação de ASM não interfere na penetração do nematoide, os estudos foram limitados ao gênero *Meloidogyne*, que ao penetrar nas raízes, move-se intercelularmente, evitando o rompimento celular (KYNDT et al., 2013). Entretanto, *Pratylenchus* move-se pelo córtex radicular intracelularmente, promovendo o rompimento celular e maiores danos a este tecido (JONES; FOSU-NYARKO, 2014), o que pode servir de sinal amplificador para a planta, que juntamente com o produto indutor, podem ter induzido, não apenas modificações estruturais restritas aos sítios de alimentação, mas em todo córtex, dificultando futuras penetrações.

Como apresentado anteriormente, os danos celulares ocasionados pela invasão do nematoide podem gerar a formação de moléculas sinalizadoras, comumente denominadas de padrões moleculares relacionados a danos (DAMPS), acionando uma cascata de eventos que levam ao aumento de resistência (BOLLER; FELIX, 2009; HAEGEMAN; JONES; DANCHIN, 2011; HEIL; LAND, 2014; HOLBEIN; GRUNDLER; SIDDIQUE, 2016). O efeito aditivo da presença do nematoide, juntamente com o produto, foi observado em tomateiros tratados com ASM, no qual houve aumento no acúmulo de lignina e na atividade da enzima peroxidase (POX) quando comparado apenas as plantas tratadas, porém não inoculadas com o nematoide (MELILLO; LEONETTI; VERONICO, 2014).

A partir do 10º DAT (experimento 1) e 6º DAT (experimento 2) foi constatada a presença de ovos no interior das raízes, o que pode ter ocorrido pelo fato de que o inóculo era composto por nematoides em diferentes fases de desenvolvimento, incluindo, fêmeas adultas.

Aos 10 e aos 8 DAT (experimentos 1 e 2, respectivamente) foi verificada a redução no número de espécimes de nematoide nas raízes de plantas tratadas com ASM e, como este período não foi suficiente para expressar reprodução, o resultado pode estar relacionado ao início do processo de ativação da indução de resistência, uma vez que o mesmo necessita de um determinado período de tempo para que possa ser estruturado (RYALS et al., 1996). Em trabalho realizado em algodão, pode-se verificar aumento na atividade da enzima POX, pirogalol e guaiacol peroxidase, em parte aérea, principalmente aos quatro e seis dias após aplicação do produto, independente da cultivar estudada (ARYAL et al., 2011). Já a aplicação de ASM no patossistema *M. incógnita*-tomateiro, maiores concentrações de peróxido de hidrogênio, aumento no teor de lignina, aos três e sete dias após inoculação, e na atividade da enzima POX, aos dois, três e sete dias após inoculação (MELILLO; LEONETTI; VERONICO, 2014).

O aumento na atividade das enzimas PPO, POX e PAL foi observado no estudo relacionado ao endoparasita migrador *Radopholus similis* Cobb parasitando raízes de bananeira resistentes, principalmente aos sete dias após inoculação, acompanhado do aumento de compostos fenólicos e lignina (SANKAR et al., 2017). Resultados semelhantes, foram observados em estudo com os híbridos de banana, Pisang Lilin e Anaikoban, resistentes e tolerantes, respectivamente, a *P. coffeae* e *R. similis*, sendo observado maior atividade PAL, POX e PPO, quando comparados às cultivares suscetíveis (KUMAR et al., 2008). Enquanto em trabalho envolvendo o híbrido de banana Pisang

Lilin e *P. coffeae*, foi verificado maior produção de fenóis totais e lignina em comparação aos híbridos suscetíveis a esta espécie (KAVITHA et al., 2008).

A atividade conjunta das enzimas POX, polifenoloxidase (PPO) e fenilalanina amônia liase (PAL) podem promover modificações estruturais que proporcionam maior enrijecimento de parede celular, prevenindo o acesso das enzimas degradativas, produzidas pelo nematoide, aos polissacarídeos de parede celular (GRABBER; HATÜELD; RALF, 1998; HIRAGA et al., 2001; HOLBEIN; GRUNDLER; SIDDIQUE, 2016). Para a POX, há relatos na literatura demonstrando sua capacidade em promover aumento da resistência de parede celular, atuando na ligação cruzada entre monômeros de extensina, criando uma rede insolúvel, densa e sólida, pela formação de ligações covalentes entre resíduos de feruloil, associados a polissacarídeos de parede celular (FRY, 2004; PASSARDI; PENEL; DUNAND, 2004). Além disto, a enzima participa da polimerização do hidroxinamil álcool (monolignóis) em lignina (HIRAGA et al., 2001; De SOUZA et al., 2003; ALMAGRO et al., 2009; BARROS-RIOS et al., 2015; BENTO-SILVA; PATTO; BRONZE, 2017). A PPO, por sua vez, possivelmente esteja envolvida no processo de lignificação, promovendo a oxidação de diferentes tipos de compostos fenólicos, contribuindo no processo polimerização da molécula de lignina (GOMEZ-VASQUEZ et al., 2004; MARJAMAA et al., 2009; ŽIVKOVIĆ et al., 2010). Enquanto a PAL é a enzima responsável por catalisar a primeira reação na dos fenilpropanoides convertendo L-fenilalanina em ácido cinâmico, produto este precursor dos ácidos hidroxicinâmico utilizados na síntese de lignina (VANHOLME et al., 2010; VOGT, 2010).

A resistência de plantas a nematoides também tem apresentado níveis de transcrição mais altos para as principais enzimas envolvidas na biossíntese de fitoalexinas isoflavonoides, dentre elas a PAL (SORIANO et al, 2004). Em estudo realizado com híbridos de milho suscetível e resistente a *M. incógnita*, foi verificado aumento na expressão do gene *ZmPAL4*, aos oito dias após inoculação, em raízes dos híbridos resistentes ao nematoide, enquanto nos híbridos suscetíveis não foi observado a expressão deste gene (STARR et al., 2014). Fitoalexinas são metabólitos secundários, provenientes da rota dos fenilpropanoides, ao qual se insere a PAL, apresentando atividade biológica contra uma variedade de patógenos (HAMMERSCHMIDT, 1999; AHUJA et al., 2012). Em estudo envolvendo cultivares suscetível e resistente a diferentes espécies de nematoides endoparasitas migradores, foi verificado maior produção de alguns tipos de

fitoalexinas, sendo as mesmas relacionadas à redução da mobilidade e alimentação dos nematoides (BALDRIDGE et al., 1998; COLLINGBORN et al., 2000; WUYTS, et al., 2006; HÖLSCHER et al., 2014; LINSELL, 2014). Na cultura do milho foi identificada a presença de dois principais tipos de fitoalexinas, Zealexina (sesquiterpenoides) e Kauralexina (diterpenoides), em híbridos resistentes a *Fusarium graminearum* Schwabe e a outras espécies de fungos, com diferentes níveis de expressão para cada fitoalexina (HUFFAKER et al., 2011).

Vale ressaltar que o ASM, além de reduzir a penetração nos períodos mais avançados da avaliação e o desenvolvimento do nematoide, promoveu redução no número de nematoides g⁻¹ de raiz. Reduções no número de ovos depositados por nematoides, após a aplicação de ASM, foi observado em diferentes culturas no controle de nematoides do gênero *Meloidogyne* (OWEN; GREEN; DEVERALL, 2002; MOLINARI; BASER, 2010; PUERARI et al., 2013; MEHER et al., 2015; HERNANDES et al., 2017). Em plantas de tomate e batata pulverizadas com ASM, maiores proporções de juvenis de segundo estágio e menores proporções de fêmeas adultas de *Meloidogyne chitwoodi* Golden; O'Bannon; Santo; Finley foram observados nas raízes das plantas em comparação às plantas controles aos 21 dias após inoculação (VIEIRA dos SANTOS; CURTIS; ABRANTES, 2013).

Da mesma forma, em raízes de feijão caupi pulverizadas com ASM foi possível notar redução próxima a 38% no número médio total de espécimes g⁻¹ raiz, além disso, foi verificado a presença de maior porcentagem de fêmeas imaturas e menor porcentagem de fêmeas adultas de *M. javanica* no sistema radicular, quando comparado à testemunha (CHINNASRI; SIPES; SCHMITT, 2003). Estas reduções, possivelmente, estejam relacionadas a menor capacidade das células nutridoras em fornecer os nutrientes necessários ao desenvolvimento do nematoide, já que a aplicação de ASM no patossistema tomateiro-*M. incógnita*, foi constatado menor diâmetro destas mesmas células, assim como a presença de citoplasma denso e bastante contraído, semelhante a uma reação de hipersensibilidade em células do parênquima, próximas aos sítios de alimentação (MELILLO; LEONETTI; VERONICO, 2014).

Deste modo, o ASM possivelmente promoveu uma ação sistêmica, aumentando a atividade de enzimas direcionadas ao enrijecimento e espessamento de parede celular, dificultando sua degradação enzimática e, conseqüentemente, reduzindo a disponibilidade de alimento ao

nematoide, fato que pode ser percebido devido o retardamento no desenvolvimento e na redução da produção de ovos.

CONCLUSÃO

A aplicação de ASM proporcionou redução no número de espécimes de *P. brachyurus* e ovos em raízes de milho a partir do oitavo e décimo dia após ao tratamento (DAT) com o produto, nos experimentos 2 e 1, respectivamente. Redução esta, também observada aos 30 e 60 DAT, em experimento 1 e aos 30 DAT no experimento 2. Além disso, em raízes de plantas tratadas com ASM foi observado maior proporção de espécimes em estágio inicial de desenvolvimento (0,10-0,29 mm), aos 6 ou 10 DAT e menor número de espécimes adultas (0,50-0,69 mm), aos 8 ou 10 DAT, em comparação às plantas controles.

REFERÊNCIAS

- AHUJA, I.; KISSEN, R.; BONES, A. M. Phytoalexins in defense against pathogens. **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 2, 2012. DOI:10.1016/j.tplants.2011.11.002
- ALMAGRO, L.; GÓMEZ, L. V. R.; BELCHI-NAVARRO, S.; BRU, R.; BARCELO, A. R.; PEDREN, M. A. Class III peroxidases in plant defence reactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 2, p. 377–390, 2009. DOI:10.1093/jxb/ern277
- ARYAL, S. K.; DAVIS, R. F.; STEVENSON, K. L.; TIMPER, P.; JI, P. Influence of infection of cotton by *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne incognita* on the production of enzymes involved in systemic acquired resistance. **Journal of Nematology**, v. 43, n.3–4, p. 152–159, 2011.
- BALDRIDGE, G.D., O'NEILL, N.R. AND SAMAC, D.A. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) resistance to the root-lesion nematode, *Pratylenchus penetrans*: defense response gene mRNA and isoflavonoid phytoalexin levels in roots. **Plant Molecular Biology**, v. 38, p. 999-1010, 1998.
- BARROS-RIOS, J.; SANTIAGO, R.; JUNG, H. J. G.; MALVAR, R. A. **Covalent cross-linking of cell-wall polysaccharides through esterified diferulates as a maize resistance mechanism against corn borers.** **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 2206-2214, 2015.
- BENTO-SILVA, A.; PATTO, M. C. V.; BRONZE, M. R. Relevance, structure and analysis of ferulic acid in maize cell walls. **Food Chemistry**, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.012>

BOLLER, T.; FELIX, G. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. **Annual Review of Plant Biology**, v. 60, p. 379–406, 2009.

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

CARDOSO, M. R.; PUERARI, H. H.; HERNANDES, I.; BRITO, O. D. C.; FERREIRA, J. C. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Acibenzolar-S-methyl doses and application methods to *Pratylenchus brachyurus* control in maize. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science**, 2016, p. 1-6. DOI: 10.1080/09064710.2016.1215514

CASTILLO, P.; VOVLAS, N. **Pratylenchus (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management**. Nematology monographs and perspectives. In: HUNT, D. J.; PERRY, R. N. (Eds.), Leiden, The Netherlands: Brill., cap. 6, p. 529, 2007.

CHINNASRI, B.; SIPES, B. S.; SCHMITT, D. P. Effects of acibenzolar-S-methyl application to *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 35, p. 110-114, 2003.

COLLINGBORN, F. M. B.; GOWEN, S. R.; MUELLER-HARVEY, I. Investigations into the biochemical basis for nematode resistance in roots of three musa cultivars in response to *Radopholus similis* infection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 11, p. 5297–5301, 2000.

COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. **State Agriculture Research Center: GHENT**, Belgium. 1972.

DAS, S.; De MASON, D. A.; EHLERS, J. D.; CLOSE, T. J.; ROBERTS, P. A. Histological characterization of root-knot nematode resistance in cowpea and its relation to reactive oxygen species modulation. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 6, p. 1305–1313, 2008. DOI:10.1093/jxb/ern036

De SOUZA, I. R. P.; De OLIVEIRA, E.; PERES, M. A.; De OLIVEIRA, A. C.; PURCINO, A. Á. C. Peroxidase activity in maize inbred lines resistant or susceptible to maize dwarf mosaic virus. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 2, n. 1, p. 1-8, 2003.

DEVI, A. N.; PONNUSWAMI, V.; SUNDARARAJU, P.; SOORIANATHASUNDARAM, K.; SATHIAMOORTHY, S.; UMA, S.; VAN DEN BERGH, I. Mechanism of resistance in banana cultivars against root lesion nematode, *Pratylenchus coffeae*. **Indian Journal of Nematology**, v. 37, p. 138–144, 2007.

DURRANT, W. E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 42, p. 185–209, 2004. DOI: 10.1146/annurev.phyto.42.040803.140421

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

FRY, S. C. Oxidative coupling of tyrosine and ferulic acid residues: Intra- and extra-protoplasmic occurrence, predominance of trimers and larger products, and possible role in inter-polymeric crosslinking. **Phytochemistry Reviews**, v. 3, p. 97–111, 2004.

FULLER, V. L.; LILLEY, C. J.; URWIN, P. E. Nematode resistance. **New Phytologist**, v. 180, p. 27–44, 2008. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2008.02508.x

GOMEZ-VASQUEZ, R.; DAY, R.; BUSCHMANN, H.; RANGLES, S.; BEECHING, J. R.; COOPER, R. M. Phenylpropanoids, phenylalanine ammonia lyase and peroxidases in elicitor-challenged cassava (*Manihot esculenta*) suspension cells and leaves. **Annals of Botany**, v. 94, p. 87-97, 2004. <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mch107>

GRABBER, J. H.; HATÜELD, R. D.; RALPH, J. Diferulate cross-links impede the enzymatic degradation of non-lignified maize walls. **Journal of the Science of Food Agriculture**, v.77, p. 193-200, 1998.

HAEGEMAN, A.; JONES, J. T.; DANCHIN, E. G. J. Horizontal gene transfer in nematodes: a catalyst for plant parasitism? **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 24, p. 879–887, 2011.

HAMMERSCHMIDT, R. Phytoalexins: what have we learned after 60 years? **Annual Review of Phytopathology**, v. 37, p. 285–306, 1999.

HEIL, M.; LAND, W. G. Danger signals - damaged-self recognition across the tree of life. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 578, 2014. doi:10.3389/fpls.2014.00578.

HERNANDES, I.; BRITO, O. D. C.; CARDOSO, M. R.; FERREIRA, J. C. A.; PUERARI, H. H.; Dias-Arieira, C. R. Acibenzolar-S-methyl on *Meloidogyne javanica* control in lettuce, **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science**, 2017, v. 67. DOI: 10.1080/09064710.2017.1329453

HIRAGA, S.; SASAKI, K; ITO, H.; OHASHI, Y.; MATSUI, H. A Large Family of Class III Plant Peroxidases. **Plant Cell Physiology**. v. 42, n. 5, p. 462–468, 2001.

HOFFMANN, L. V.; CARDOSO, E.; NOGUEIRA, B. Effect of BTH on soybean plants infected by *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952 and *Meloidogyne javanica* (Treub., 1885) Chitwood, 1949. **Summa Phytopatologica**, v.31, n.1, p. 9-13, 2005.

HOLBEIN, J.; GRUNDLER, F. M. W.; SIDDIQUE, S. Plant basal resistance to nematodes: an update. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 7, p. 2049–2061, 2016. DOI:10.1093/jxb/erw005

HÖLSCHER, D.; DHAKSHINAMOORTHY, S. ; ALEXANDROVD, T.; BECKERH, M.; BRETSCHEIDT, T.; BUERKERT, A.; CRECELIUS, A. C.; WAELE, DE D.; ELSENL, A.; HECKELM, D. G.; HEKLAUN, H.; HERTWECKI, C.; KAIO, M.; KNOPI, K.; KRAFFT, C.; MADDULAO, R. K.; MATTHÄUS, C.; POPP, J.; SCHNEIDER, B.; SCHUBERT, U. S.; SIKORAS, R. A.; SVATOSO, A.; SWENNENC, R. L. Phenalenone-type phytoalexins mediate resistance of banana plants (*Musa* spp.) to the burrowing nematode *Radopholus similis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 1, p. 105–110, 2014. DOI: 10.1073/pnas.1314168110

HOMIAK, J. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; COUTO, E. A. A.; KATH, J.; ABE, V. H. F. Seed treatments associated with resistance inducers for management of *Pratylenchus brachyurus* in soybean. **Phytoparasitica**, v. 45, p. 243-250, 2017. DOI: 10.1007/s12600-017-1575-0

HUFFAKER, A., KAPLAN, F.; VAUGHAN, M. M.; DAFOE, N. J.; NI, X.; ROCCA, J. R.; ALBORN, H. T.; TEAL, P. E.; SCHMELZ, E. A. Novel acidic sesquiterpenoids constitute a dominant class of pathogen-induced phytoalexins in maize. **Plant Physiology**, v. 156, n.4, p. 2082–2097, 2011.

JONES, M. G. K.; FOSU-NYARKO, J. Molecular biology of root lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) and their interaction with host plants. **Annals of Applied Biology**, v. 164, p. 163-181, 2014.

KAVITHA, P. S.; BALAMOCHAN, T. N.; KAVITHA, M.; SELVI, S. Biochemical interactions of banana hybrids to lesion nematode (*Pratylenchus coffeae*). **Plant Archives**, v. 8, n. 1, p. 105-110, 2008.

KUMAR, A. R.; KUMAR, N.; POORNIMA, K.; SOORIANATHASUNDARAM, K. Screening of in-vitro derived mutants of banana against nematodes using bio-chemical parameters. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**, v. 2, p. 271–278, 2008.

KYNDT, T.; VIEIRA, P.; GHEYSEN, G.; de ALMEIDA-ENGLER, J. Nematode feeding sites: unique organs in plant roots. **Planta**, 2013, p. 1-3. DOI 10.1007/s00425-013-1923-z

LEITE, B.; PASCHOLATI, S. F. Reconhecimento e transdução de sinais moleculares em interações plantas- fungos patogênicos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 5, p. 235-280, 1997.

LINSELL, K. J., RILEY, I. T., DAVIES, K. A., OLDACH, K. H. Characterization of resistance to *Pratylenchus thornei* (nematoda) in wheat (*Triticum aestivum*): Attraction, penetration, motility, and reproduction. **Phytopathology**, v. 104, p. 174-187, 2014.

MARJAMAA, K.; KUKKOLA, E. M.; FAGERSTEDT, K. V. The role of xylem class III peroxidases in lignification. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 367-376 2009. <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/ern278>

MEHER, H. C.; GAJBHIYE, V. T.; SINGH, G.; CHAWLA, G. Altered metabolomic profile of selected metabolites and improved resistance of *Cicer arietinum* (L.) against *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood following seed soaking with salicylic acid, benzothiadiazole or nicotinic acid. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 37, p. 140-152, 2015. DOI: 10.1007/s11738-015-1888-6

MELILLO, M. T.; LEONETTI, P.; VERONICO, P. Benzothiadiazole effect in the compatible tomato-*Meloidogyne incognita* interaction: changes in giant cell development and priming of two root anionic peroxidases. *Planta*, v. 240, p. 841–854, 2014. DOI; 10.1007/s00425-014-2138-7

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

OWEN, K. J.; GREEN, C. D.; DEVERALL, B. J. Systemic acquired resistance against root-knot nematodes in grapevines. In: International Congress of Plant Pathology, 7. 1998, Edinburg. **Proceedings**. Edinburg, International Society for Plant Pathology, 2002, s.n.

PASSARDI, F.; PENEL, C.; DUNAND, C. Performing the paradoxal: how plant peroxidases modify the cell wall. **Trends in Plant Science**, v. 9, p. 534-540, 2004.

PUERARI, H. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; DADAZIO, T. S.; MATTEI, D.; SILVA, T. R. B.; RIBEIRO, R. C. F. Evaluation of acibenzolar-S-methyl for the control of *Meloidogyne javanica* and effects on the development of susceptible and resistant soybean. **Tropical Plant Pathology**, v.38, p.44-48, 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**, v. 43, p. 383-389, 2015. DOI 10.1007/s12600-014-0447-9

ROMEIRO, R. S.; GARCIA, F. A. O. Indução de resistência em plantas a patógenos por eliciadores de natureza bacteriana. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 85-99.

RYALS, J. A.; NEUENSCHWANDER, U. H.; WILLITS, M. G.; MOLINA, A. STEINER, H. Y.; HUNT, M. D. Systemic acquired resistance. **The Plant Cell**, Rockville, v. 8, n. 10, p. 1809-1819, 1996.

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

SANKAR, C.; SOORIANATHASUNDARAM, K.; KUMAR, N.; KARUNAKARAN, G.; SIVAKUMAR, M. Induction of Resistant to *Radopholus similis* and Defence Related Mechanism in Susceptible and Resistance Banana Hybrids Infected with *Radopholus similis*. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6. n. 4, p. 1668-1684, 2017.

SEENIVASAN, N. Efficacy of *Pseudomonas fluorescens* and *Paecilomyces lilacinus* against *Meloidogyne graminicola* infesting rice under system of rice intensification. **Archives Phytopathology Plant Protection**, v. 44, p. 1467-1482, 2011.

SORIANO, I.R., ASENSTORFER, R.E., SCHMIDT, O. AND RILEY, I.T. Inducible flavone in oats (*Avena sativa*) is a novel defense against plant-parasitic nematodes. **Nematology**, 94, 1207-1214, 2004.

STARR, J. L.; YANG, W.; YAN, Y.; CRUTCHER, F.; KOLOMIETS, M. Expression of Phenylalanine Ammonia Lyase Genes in Maize Lines Differing in Susceptibility to *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, v. 46, n. 4, p. 360–364, 2014.

SUNDARARAJU, P.; SUBA, K. P. Biochemical and molecular changes in banana plants induced by *Pratylenchus coffeae* and *Meloidogyne incognita*. **Indian Journal of Nematology**, v. 36, n. 2, p. 239-242, 2006.

VANHOLME, R.; DEMEDTS, B.; MORREEL, K.; RALPH, J.; BOERJAN, W. Lignin Biosynthesis and Structure. **Plant Physiology**, v. 153, n. 3, p. 895–905, 2010. DOI: 10.1104/pp.110.155119

VIEIRA dos SANTOS, M. C.; CURTIS, R. H. C.; ABRANTES, I. Effect of plant elicitors on the reproduction of the root-knot nematode *Meloidogyne chitwoodi* on susceptible hosts. **European Journal of Plant Pathology**, v. 136, p. 193–202, 2013. DOI 10.1007/s10658-012-0155-6

VOGT, T. Phenylpropanoid biosynthesis. **Molecular Plant**, v. 3, n. 1, p. 2–20, 2010. DOI: 10.1093/mp/ssp106

WUYTS, N.; DE WAELE, D.; SWENNEN, R. Activity of phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase and polyphenol oxidase in roots of banana (*Musa acuminata* AAA, cvs Grande Naine and Yangambi km5) before and after infection with *Radopholus similis*. **Nematology**, v. 8, n. 2, p. 201–209, 2006.

WUYTS, N.; LOGNAY, G.; VERSCHEURE, M.; MARLIER, M.; WAELE, D. D.; SWENNEN, R. Potential physical and chemical barriers to infection by the burrowing nematode *Radopholus similis* in roots of susceptible and resistant banana (*Musa* spp.), **Plant Pathology**, v. 56, p. 878, 2007.

ZACHEO, G., ZACHEO, T. B., PACODA, D., ORLANDO, C.; DURBIN, R. D. The association between heat induced susceptibility of tomato to *Meloidogyne incognita* and peroxidase activity. **Physiology Molecular Plant Pathology**, v. 46, p. 491-507, 1995.

ŽIVKOVIĆ, S.; POPOVIĆ, M.; DRAGIŠIĆ-MAKSIMOVIĆ, J.; MOMČILOVIĆ, I.; GRUBIŠIĆ, D. Dehydration-related changes of peroxidase and polyphenol oxidase activity in fronds of the resurrection fern *Asplenium ceterach* L. **Archives Biological Sciences**, Belgrade, v. 62, n. 4, p. 1071-1081, 2010. DOI:10.2298/ABS1004071Z

CONCLUSÃO GERAL

ASM e Ecolife™ foram eficientes no controle de *P. brachyurus*, principalmente em cultivo de milho suscetível ao nematoide, sob condições controladas. Enquanto o fosfito de manganês apresentou valores variáveis sob a população do nematoide. Em geral, os indutores não apresentaram efeito expressivo sobre o desenvolvimento vegetativo da planta, sendo este, afetado basicamente pelo fator genótipo. Em segundo trabalho, ASM reduziu a população do nematoide nas raízes do milho e não afetou negativamente os parâmetros vegetativos aos 30 e 60 dias após os tratamentos. Além disso, observou-se maior atividade das enzimas POX, PPO e GLU na parte aérea de plantas tratadas com ASM, enquanto para a enzima PAL, o controle inoculado apresentou valores semelhantes aos tratamentos que receberam o produto. No sistema radicular foi observado aumento na atividade das enzimas POX, PPO, PAL e GLU, nas plantas tratadas com ASM, iniciando, principalmente, aos cinco e seis dias após aplicação e mantendo-se superiores até os 12 e 15 dias. A aplicação de ASM também proporcionou redução no número de espécimes e ovos no sistema radicular das plantas tratadas aos 8 e 10 DAT. Com relação aos desenvolvimentos, pode-se observar aumento na proporção de espécimes em estágio inicial de desenvolvimento e menor proporção de espécimes apresentando entre 0,5 a 0,65 mm de comprimento em plantas tratadas com ASM em comparação ao controle. Deste modo, a aplicação dos produtos Ecolife™ e ASM podem ser utilizados no controle de *P. brachyurus*, sendo constatado que este último produto, após aplicado, promove o aumento na atividade de enzimas responsáveis pelo incremento na resistência de parede celular, a partir do 5º ou 6º dia após aplicação, reduzindo a capacidade de penetração do mesmo e possivelmente dificultando sua capacidade de alimentação, indiretamente observada pelo retardamento no desenvolvimento das espécimes presentes em plantas tratadas com ASM.

APÊNDICE A

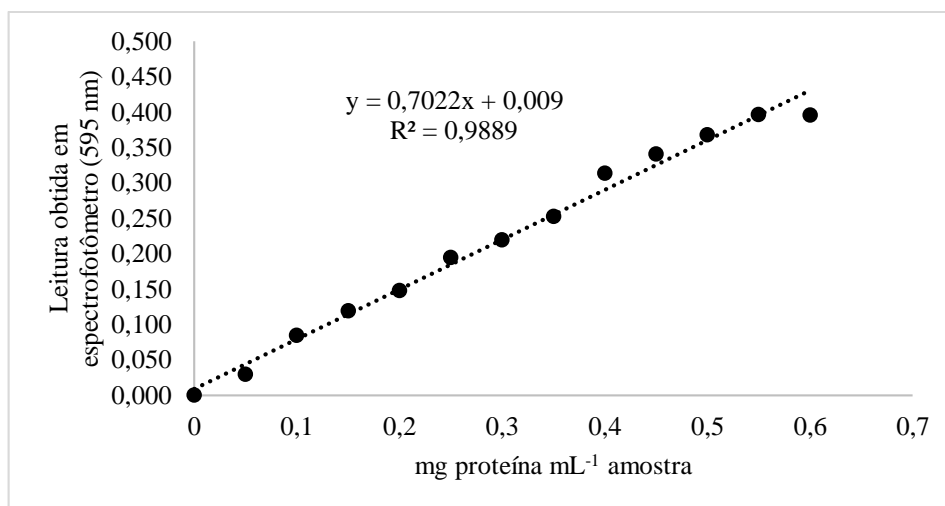


Figura 2.1 Curva de proteínas utilizada para cálculo do teor de proteínas (mg mL⁻¹ de amostra) em experimento 1

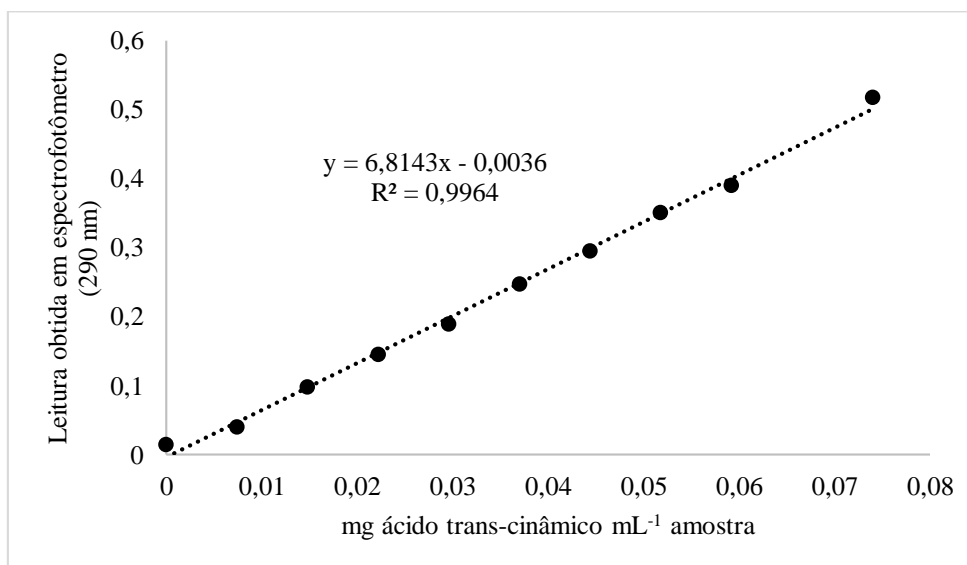


Figura 2.2 Curva de ácido trans-cinâmico utilizada para o cálculo da atividade específica da enzima Fenilalanina amônia-liase (mg de ácido trans-cinâmico h⁻¹ mg⁻¹ de proteína) em experimento 1

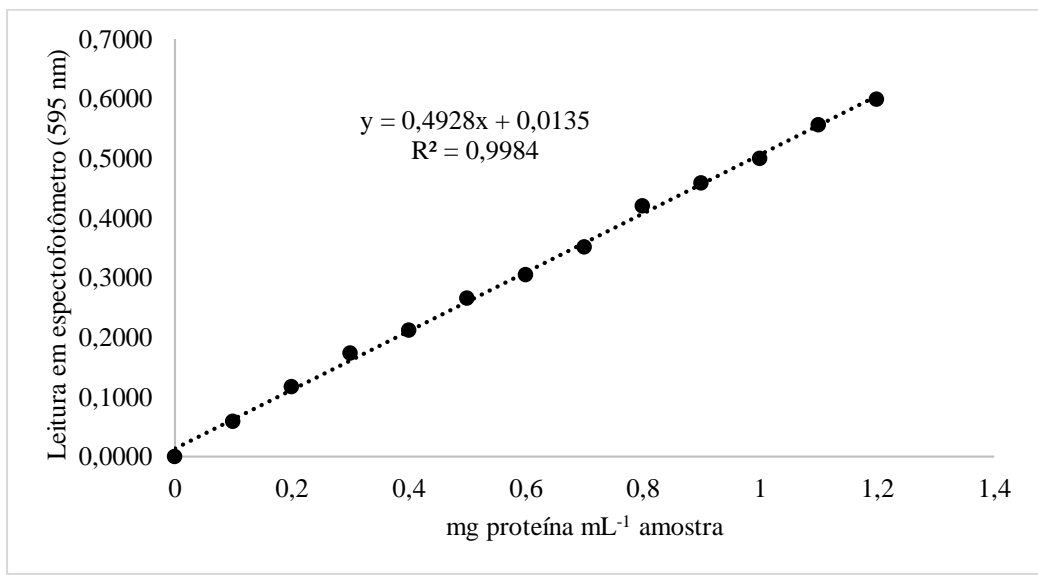


Figura 2.3 Curva de proteínas utilizada para cálculo do teor de proteínas (mg mL⁻¹ de amostra) em experimento 2

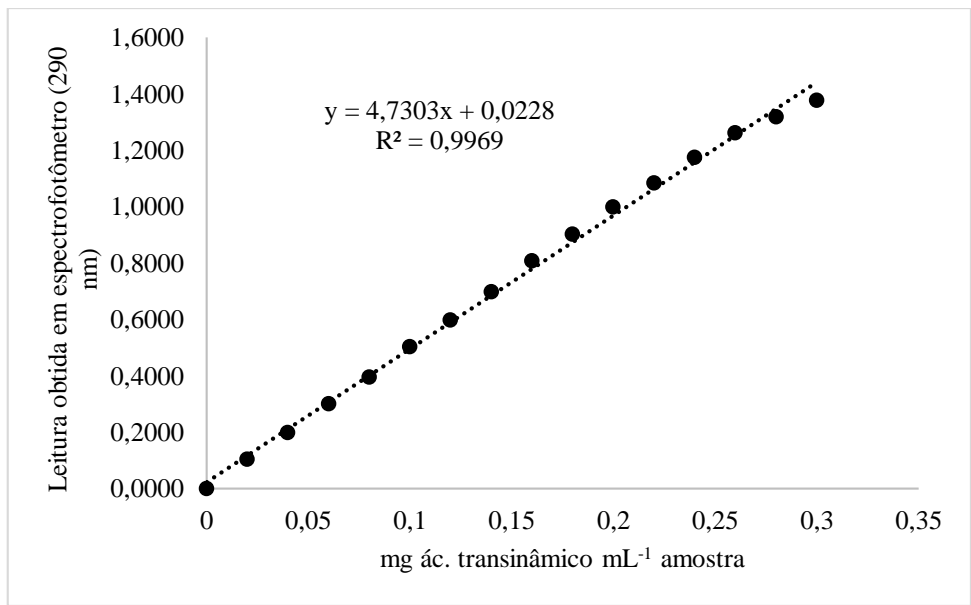


Figura 2.4 Curva de ácido trans-cinâmico utilizada para o cálculo da atividade específica da enzima Fenilalanina amônia-liase (mg de ácido trans-cinâmico h⁻¹ mg⁻¹ de proteína) em experimento 2

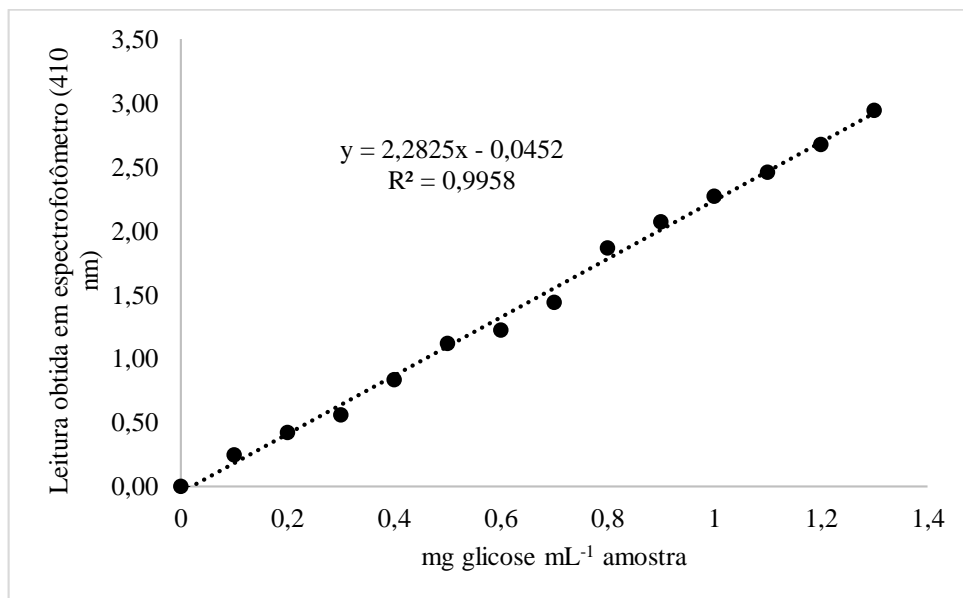


Figura 2.5 Curva de glicose utilizada para o cálculo da atividade específica da enzima β -1,3-glicanase ($\text{mg de glicose h}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína) em experimento 2